

Universidad Pública de Navarra

Nafarroako Unibertsitate Publikoa

*ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR
DE INGENIEROS AGRONOMOS*

*NEKAZARITZAKO INGENIARIEN
GOI MAILAKO ESKOLA TEKNIKO*

Cuantificación de la retención de Carvacrol y Eugenol durante la formación de películas comestibles activas

presentado por

Gaizka Garde Izquierdo(e)k

aurkeztua

*INGENIERO TÉCNICO AGRÍCOLA EN INDUSTRIAS AGRARIAS Y ALIMENTARIAS
NEKAZARITZAKO INGENIARI TEKNIKO*
*NEKAZARITZA ETA ELIKADURA
INDUSTRIAK*

Febrero 2013 /2013 Otsaila

Título del trabajo Fin de Carrera:

**CUANTIFICACIÓN DE LA RETENCIÓN DE CARVACROL Y EUGENOL
DURANTE LA FORMACIÓN DE PELÍCULAS COMESTIBLES ACTIVAS.**

DIRECTORES: Juan Ignacio Maté Caballero

DEPARTAMENTO: TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

ALUMNO: Gaizka Garde Izquierdo

El presente Trabajo de Fin de Carrera se basa en la investigación sobre films de WPI llevada a cabo en el Área de Tecnología de los alimentos.

Juan Ignacio Maté Caballero, profesor de la Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos autoriza la presentación de dicho trabajo.

El director del Trabajo,

El alumno,

Juan Ignacio Maté Caballero

Gaizka Garde Izquierdo

Pamplona, Febrero de 2013

ÍNDICE GENERAL

1. INTRODUCCIÓN.....	3
1.1 Los alimentos. Generalidades.....	3
1.2 Historia.....	5
1.3 Embalajes sintéticos.....	5
1.4 Embalajes biodegradables.....	10
1.5 Películas y recubrimientos comestibles.....	12
1.6 Materiales utilizados habitualmente para la formulación de films	15
1.6.1 Hidrocoloides.....	16
1.6.2 Lípidos.....	18
1.6.3 Métodos en la formación de las películas comestibles...	20
1.6.4 Formas de aplicación de las películas comestibles sobre los alimentos.....	21
1.6.5 Aplicaciones de las películas comestibles sobre los alimentos.....	22
1.6.6 Propiedades de las películas y recubrimientos comestibles.....	23
1.6.6.1 Propiedades barrera a la transferencia de materia.....	23
1.6.6.2 Propiedades mecánicas.....	29
1.6.6.3 Propiedades generales.....	30
1.6.7 Aditivos.....	32
1.6.7.1 Aditivos tecnológicos.....	32
1.6.7.2 Aditivos funcionales.....	32
1.6.7.3 Especies.....	35
1.7 Películas comestibles de proteína aislada de suero lácteo (WPI)	37
1.8 Recubrimientos antimicrobianos.....	37
1.8.1 Tipos de sustancias con propiedades antimicrobianas.....	38
1.8.2 Aceites esenciales.....	39
2. OBJETIVO Y DISEÑO EXPERIMENTAL.....	42
2.1 Objetivo.....	42
2.2 Diseño experimental.....	42
3 MATERIAL Y MÉTODO.....	45
3.1 Materiales.....	45
3.1.1 Componente base.....	46
3.1.2 Aditivos.....	46
3.1.3 Productos adicionales.....	47
3.2 Método de fabricación de films de Eugenol y Carvacrol.....	47
3.3 Extracción y medida del compuesto activo en la muestra.....	52
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	55
4.1 Pruebas preliminares.....	55
4.1.1 Método de determinación de la concentración de Eugenol y Carvacrol en solución y film.....	55

4.1.1.1 Determinación de la longitud de onda y diluciones.....	55
4.1.1.2 Construcción de las rectas patrón.....	57
4.2 Evolución de la concentración de compuesto activo calculado....	62
4.3 Efecto de la temperatura sobre la pérdida final del compuesto activo en films WPI.....	68
5. CONCLUSIONES.....	70
6. ANEXOS.....	72
6.1 Estabilización de la cámara climática y evolución de temperatura y HR durante el casting.....	72
6.2 Cálculos realizados para Eugenol.....	76
6.2.1 Evolución del secado en el casting para Eugenol....	78
6.3 Cálculos realizados para Carvacrol.....	82
6.3.1 Evolución del secado en el casting para Carvacrol.	84
6.4 Cálculos de cantidades absolutas y sus desviaciones típicas.....	88
7. BIBLIOGRAFÍA.....	90

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Efecto de la barrera de los recubrimientos comestibles aplicados a alimentos. Adaptado de (debeaufort y Quezada-Gallo, 1998).....	13
Figura 2: Modelo de películas compuestas, laminadas. Adaptado de (Mendoza, 2009).....	19
Figura 3: Modelo de películas compuestas, emulsiones o conglomerados. Adaptado de (Mendoza, 2009).....	20
Figura 4: Estructura química y características químicas del Carvacrol.....	35
Figura 5: Estructura química y características químicas del Eugenol.....	36
Figura 6: Estructura química Carvacrol.....	41
Figura 7: Estructura química Eugenol.....	41
Figura 8: Botes de compuesto activo Eugenol y Carvacrol utilizados durante el experimento.....	46
Figura 9: Primeros pasos a realizar en la preparación de la muestra; F1-Vaso con imán agitador utilizados en el experimento. F2-Mismo vaso de la fotografía 1 con el glicerol añadido (5gr). F3-Mismo vaso de la fotografía 2 con 10gr de proteína aislada del suero lácteo. F4-Mismo vaso de la fotografía 3 con 83gr de agua destilada añadidos.....	47
Figura 10: Solución formadora de films antes del agitador magnético (izq.) y después del agitador magnético (der.).....	48
Figura 11: Baño termostático a 90°C con o sin agitación a 33rpm.....	48
Figura 12: A la izquierda, muestras tapadas para introducirlas en el baño termostático a 90°C y a la derecha, muestras en agitación (a 33rpm) en el mismo baño termostático.....	49
Figura 13: Muestras enfriadas tras el baño termostático durante 30min junto a las botellas con los aceites esenciales correspondientes a cada muestra (Carvacrol a la izq. y Eugenol a la der.).....	49
Figura 14: Collage de fotos. Equipo de ultrasonido y pasos a tomar para su uso. Ultima foto resultado final de la muestra tras 5min en el ultrasonido.....	50

Figura 15: Preparación placas muestra. A la izquierda placa de vidrio de Petri colocada en la balanza y tarada y a la izquierda misma placa con 14gr de solución formadora de film.....	50
Figura 16: Cámara climática de secado utilizada en el experimento (Weiss Technik, Alemania).....	51
Figura 17: Placa con sonda de temperatura colocada para la medición de la evolución de la temperatura de secado del film.....	51
Figura 18: A la izquierda tubos con 15ml de etanol preparados para realizar el muestreo y a la derecha usuario realizando la extracción de 0.5gr de muestra de la solución formadora de film.....	52
Figura 19: A la derecha, disco rotatorio continuo de tubos (a T ^a ambiente) y a la izquierda, tubos muestra rotulados para su identificación.....	52
Figura 20: F1; Film activo de WPI terminado. F2; Micrómetro digital utilizado. F3 y F4; Material y método para la toma de muestra de discos de 17mm. F5; Resultados.....	53
Figura 21: Fotografía: Espectrofotómetro y cubeta de cuarzo utilizado para la medición de ABS de las muestra.....	54
Figura 22: Gráfica de ABS (en un rango de 200 a 350 nm de longitud de onda) de una muestra (0.5gr de solución formadora de films en 15ml de etanol) de Eugenol saturada.....	56
Figura 23: Gráfica de ABS (en un rango de 200 a 350 nm de longitud de onda) de una muestra (dilución decimal de la muestra de 0.5gr de solución formadora de films en 15ml de etanol) de Eugenol no saturada.....	56
Figura 24: Esquema de las muestras utilizadas para realizar la recta patrón.....	58
Figura 25: A la izquierda, pipetas regulable de hasta 1ml y hasta 15ml utilizadas para realizar las diluciones y a la derecha usuario realizando las diluciones.....	58
Figura 26: Recta patrón realizada para Eugenol.....	59
Figura 27: Recta patrón realizada para Carvacrol.....	60
Figura 28: Recta patrón realizada para Carvacrol y Eugenol.....	61

Figura 29: Evolución de la concentración (mg c.a/g film) de Eugenol durante el secado de la solución formadora de films en la cámara climática para condición de temperatura de fabricación (40°C, 50°C, 60°C y 80°C.)...	62
Figura 30: Evolución de la cantidad (mg) de Eugenol durante el secado de la solución formadora de films en la cámara climática para condición de temperatura de fabricación (40°C, 50°C, 60°C y 80°C.) En ella expresamos el momento en el que pasamos de extraer muestras en estado líquido o gel a extraer muestras en estado sólido (film). La franja roja corresponde al valor de la cantidad inicial teórica de Eugenol.....	63
Figura 31: Evolución de la concentración (mg c.a./g film) de Carvacrol durante el secado de la solución formadora de films en la cámara climática para condición de temperatura de fabricación (40°C, 50°C, 60°C y 80°C.)...	64
Figura 32: Evolución de la cantidad (mg) de Carvacrol durante el secado de la solución formadora de films en la cámara climática para condición de temperatura de fabricación (40°C, 50°C, 60°C y 80°C.) En ella expresamos el momento en el que pasamos de extraer muestras en estado líquido o gel a extraer muestras en estado sólido (film). La franja roja corresponde al valor de la cantidad inicial teórica de Carvacrol.....	65
Figura 33: Evolución a lo largos del casting a 40°C del contenido de Eugenol (rojo) y Carvacrol (azul) y sus desviaciones típicas.....	66
Figura 34: Evolución a lo largos del casting a 50°C del contenido de Eugenol (rojo) y Carvacrol (azul) y sus desviaciones típicas.....	66
Figura 35: Evolución a lo largos del casting a 60°C del contenido de Eugenol (rojo) y Carvacrol (azul) y sus desviaciones típicas.....	67
Figura 36: Evolución a lo largos del casting a 80°C del contenido de Eugenol (rojo) y Carvacrol (azul) y sus desviaciones típicas.....	67
Figura 37: Porcentaje final de compuestos activos (Carvacrol y Eugenol) fijados al film al finalizar del proceso de fabricación respecto al porcentaje inicial de la solución formadora de film para cada condición de temperatura.....	68
Figura 38: Porcentaje final de compuestos activos (Carvacrol y Eugenol) perdido al film al finalizar el proceso de fabricación respecto al porcentaje inicial de la solución formadora de film para cada condición de temperatura.....	69

Figura 39: Evolución a lo largo del tiempo de las condiciones ambientales (temperatura y humedad relativa) de la cámara climática durante los diferentes castings realizados para Eugenol.....	73
Figura 40: Evolución a lo largo del tiempo de las condiciones ambientales (temperatura y humedad relativa) de la cámara climática durante los diferentes castings realizados para Carvacrol.....	75
Figura 41: Cinéticas de secado de los film de Eugenol para cada condición de temperatura trabajada en las que se observa la evolución de la temperatura en la cámara climática, en el film, y la evolución del peso de la solución formadora de films.....	81
Figura 42: Cinéticas de secado de los film de Carvacrol para cada condición de temperatura trabajada en las que se observa la evolución de la temperatura en la cámara climática, en el film, y la evolución del peso de la solución formadora de films.	87

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Características del film apropiado en función de su aplicación.....	22
Tabla 2: Condiciones de secado a las que se han sometido las muestras en el experimento y tiempos de extracción de las muestras (5 tiempos de extracción por cada experimento).....	42
Tabla 3: Tiempos de extracción de las 5 muestras fijados para condición de temperatura.....	43
Tabla 4: Datos sobre la composición en volumen de las muestras utilizadas para realizar la recta patrón.....	57
Tabla 5: Datos de partida para la realización de la recta patrón de Eugenol.....	59
Tabla 6: Datos de partida para la realización de la recta patrón de Carvacrol.....	60
Tabla 7: Datos de los pesos (solución o de film en la placa) de las muestras realizadas y extraídas en cada tiempo de extracción (Eugenol).....	76
Tabla 8: Relación de datos utilizada para obtener los pesos de los discos de 17mm de Eugenol.....	76
Tabla 9: Peso calculado de los diferentes discos de 17mm del film de Eugenol.....	76
Tabla 10: Cálculos realizados para Eugenol (casting a 40°C y 50°C).....	77
Tabla 11: Cálculos realizados para Eugenol (casting a 60°C y 80°C).....	77
Tabla 12: Cálculos y datos de partida para la realización de la recta patrón de Eugenol.....	77
Tabla 13: Concentración expresada en mg Eugenol/g de film o solución de cada muestra realizada y para cada Casting.....	78
Tabla 14: Cantidad (mg) de Eugenol de cada muestra realizada y para cada Casting.....	78

Tabla 15: Tiempo de extracción de cada una de las 5 muestra expresado en minutos para cada condición de temperatura realizada. (Eugenol).....	78
Tabla 16: Datos de los pesos (solución o de film en la placa) de las muestras realizadas y extraídas en cada tiempo de extracción. (Eugenol).....	79
Tabla 17: Datos de los pesos (solución o de film en la placa) de las muestras realizadas y extraídas en cada tiempo de extracción (Carvacrol).....	82
Tabla 18: Relación de datos utilizada para obtener los pesos de los discos de 17mm de Carvacrol.....	82
Tabla 19: Peso calculado de los diferentes discos de 17mm del film de Carvacrol.....	82
Tabla 20: Cálculos realizados para Carvacrol (casting a 40°C y 50°C).....	83
Tabla 21: Cálculos realizados para Carvacrol (casting a 60°C y 80°C).....	83
Tabla 22: Cálculos y datos de partida para la realización de la recta patrón de Carvacrol.....	83
Tabla 23: Concentración expresada en mg Carvacrol/g de film o solución de cada muestra realizada y para cada Casting.....	84
Tabla 24: Cantidad (mg) de Carvacrol de cada muestra realizada y para cada Casting.....	84
Tabla 25: Tiempo de extracción de cada una de las 5 muestra expresado en minutos para cada condición de temperatura realizada. (Carvacrol).....	84
Tabla 26: Datos de los pesos (solución o de film en la placa) de las muestras realizadas y extraídas en cada tiempo de extracción. (Carvacrol).....	85
Tabla 27: Cálculos de los mg/g, valor medio y desviaciones típicas para Eugenol.....	88
Tabla 28: Cálculos de los mg/g, valor medio y desviaciones típicas para Carvacrol.....	89

RESUMEN

La aplicación más innovadora de las películas y recubrimientos comestibles es su empleo como matrices portadoras de distintos aditivos funcionales como los agentes antimicrobianos capaces de aumentar la seguridad, vida comercial y calidad de los alimentos. La efectividad este tipo de películas reside en el control de la migración de sus agentes activos hacia la superficie de los productos sobre los que se disponen, ayudando a la dosificación del aditivo y al mantenimiento de las concentraciones efectivas localizadas en el lugar en el que son necesarias. La difusión de los agentes antimicrobianos desde las películas comestibles es función de diferentes factores como la naturaleza y tipo del hidrocoloide empleado en la matriz estructural, de las características químicas del agente antimicrobiano incorporado, de las características físico-químicas del producto alimentario que protege, así como de todas sus interacciones.

Actualmente, en la industria agroalimentaria existe una fuerte tendencia a seleccionar formulaciones basadas en compuestos naturales con el fin de satisfacer las demandas de los consumidores de alimentos saludables y libres de aditivos químicos. Así, los aceites esenciales y los extractos de plantas y especias son los compuestos antimicrobianos naturales más demandados por sus reconocidas propiedades antioxidantes y/o antimicrobianas.

En el desarrollo de películas comestibles que incorporan aceites esenciales se plantea el problema de la pérdida de los compuestos volátiles con actividad antimicrobiana.

Se propone como objetivo fundamental de este trabajo fin de carrera la optimización de la retención de compuestos activos (Eugenol y Carvacrol) durante la formación de las películas comestibles. Concretamente actuando sobre la etapa de proceso de secado. Así se establecen como objetivos específicos:

- La caracterización de las cinéticas de secado a partir de diferentes condiciones medio ambientales controladas.
- La cuantificación de las pérdidas de los compuestos volátiles antimicrobianos durante el secado de las películas.
- El establecimiento del protocolo adecuado para controlar las pérdidas por volatilidad.

Para ello se elaborarán películas comestibles basadas en Proteína Aislada de Suero Lácteo (WPI) con carvacrol y eugenol como agentes antimicrobianos naturales aplicando los protocolos establecidos en el Departamento de Tecnología de Alimentos. Se actuará sobre una de las etapas de proceso fundamentales en la elaboración de películas, el secado. Así, se empleará una cámara climática (Weiss Technik, Alemania) para establecer 4 diferentes velocidades de secado controlado. Se relacionarán las cinéticas de secado de las películas con el contenido en agente activo retenido. La

cuantificación de carvacrol y eugenol se realizará a través de técnicas espectrofotométricas extrayendo muestras representativas en diferentes tiempos de cada proceso de secado. Finalmente se establecerá cuál es el proceso de fabricación que asegure la menor pérdida del compuesto activo (c.a.)

1 INTRODUCCIÓN

1.1 LOS ALIMENTOS. GENERALIDADES

La Real Academia Española (RAE) define “**Alimento**” como el conjunto de sustancias que un ser vivo toma o recibe para subsistir, para su nutrición. Estos alimentos se presentan en varias formas diferentes aunque siempre poseen las mismas funciones químicas básicas como suministrar la energía necesaria a las células del cuerpo y ejercer las funciones de materia prima para el crecimiento, la restauración y el mantenimiento de los tejidos y órganos vitales. Para ellos un alimento debe o debería aportar diferentes compuestos químicos como agua, lípidos, proteínas, carbohidratos y otros componentes, que aunque se encuentren en pequeñas cantidades son fundamentales como son los minerales y vitaminas.

Todos los alimentos que ingiere el ser humano son de origen biológico, pues derivan de las plantas y de los animales. Este carácter biológico es lo que lo hace alterable mediante cambios de origen bióticos y abióticos que hacen que el alimento no sea apto para el consumo. Son 3 factores las causas por las que se altera un alimento: en primer lugar factores físicos como golpes, mordeduras, picaduras etc. que provocan el deterioro del alimento. En segundo lugar las químicas derivadas o no de las físicas como las siguientes reacciones químicas; maduración, oxidación, pardeamientos enzimáticos o no enzimáticos. Y finalmente factores microbiológicos como hongos, bacterias y levaduras y resto de agentes microbiológicos que acaban por afectar a la calidad y características del producto y hacen que se vaya deteriorando y provoquen su descomposición o incluso puedan producir sustancias tóxicas sobre él.

La conservación del alimento consiste en mantener el mayor tiempo posible el grado más alto de la calidad del alimento, tratando de disminuir los efectos de los diversos mecanismos de alteración. Para ello, hay que limitar cuáles son las cualidades que se desean preservar o conservar, saber los mecanismos de las alteraciones de dichas cualidades, como los microorganismos (bacterias, levaduras y mohos) por ejemplo y las reacciones químicas o bioquímicas que producen estos microorganismos, y conocer las principales técnicas de conservación para obtener un alimento sin alteraciones en sus características organolépticas típicas (color, olor y sabor) y pueda ser consumido sin riesgo durante un cierto periodo de tiempo (no inferior a un año).

En los países desarrollados e industrializados se aprecia un cambio en los hábitos y costumbres de consumo, que cada vez más se interesan por los

temas de salud (consumo de alimentos poco procesados por ejemplo) y de medio ambiente. En la misma medida que van cambiando nuestro estilo y ritmo de vida también lo hacen nuestra demanda de productos alimenticios. A día de hoy, se da prioridad máxima a la seguridad y al buen paladar combinados con la facilidad de consumo. La facilidad de consumo se refiere a la facilidad de apertura y cierre de los envases, a su manejabilidad, transporte y almacenamiento, etc.

Este cambio de tendencias hace que la industria tenga la obligación de innovar tanto en sus envases y materiales como en sus técnicas de envasado, a mantener un equilibrio entre el mínimo procesamiento y el mantenimiento de los estándares de higiene y seguridad del producto. Estas innovaciones se han dado principalmente en las siguientes áreas del campo de los envases de alimentos:

- Uso de nuevos materiales y gases para el envasado y el estudio de estos en contacto con el alimento.
- Estudios del reciclado de los envases y sus materiales. Estudiar la posibilidad de reutilizar el envase.
- Innovaciones en el diseño de estos envases y su adaptación en formas materiales y tamaños en función del tipo de alimento que vayan a contener (envases “a medida”).
- Evolución y desarrollo de nuevas maquinarias y técnicas de envasado más eficientes, económicas y menos contaminantes.

Para proteger un alimento y evitar la pérdida de gases, humedad, olor o sabor del mismo, es necesario emplear envases que sean una barrera eficaz. Cumplir todas estas satisfacciones no es algo sencillo y es esa la razón por la que se proponen varias soluciones diferentes (como el uso de varias barreras, películas más gruesas, películas de materiales compuestos) en el caso de los plásticos. Además es frecuente añadir a estos envases agentes antimicrobianos para combatir el crecimiento microbiano en la superficie de los alimentos que es uno de los problemas más comunes y causa principal del deterioro de los alimentos refrigerados. Sin embargo, la efectividad del protector a lo largo del tiempo es limitada porque se difunde dentro del alimento. Estas innovaciones frecuentemente van en contra de los objetivos principales de la actual directiva de Envases, que habla de que se ha de evitar envolturas innecesarias a la vez que se persigue la capacidad máxima de reciclaje.

Estos plásticos constituyen ya el 24-30% de la basura municipal y aproximadamente la mitad proviene de aplicaciones de envasado (Rowat,

1993). Es esta la razón por la que los envases plásticos son el centro de los programas de reducción del volumen de las basuras municipales.

1.2 HISTORIA

En el año 8000 antes de nuestra era es cuando comienza la historia del embalaje, con el uso de vasijas de arcilla como recipiente. Y desde entonces su uso ha ido aumentando, evolucionando y diversificándose en los últimos años, junto a las nuevas tecnologías y tratando de cubrir las nuevas necesidades sociales demandadas.

En la prehistoria el hombre estaba rodeado de envases naturales que protegían y cubrían a las frutas u otra clase de alimentos. Viendo su utilidad buscó imitarlas, adaptándolas y mejorándolas según sus necesidades. En el año 800 A.C. se encuentran los primeros intentos formados por hierbas entrelazadas, vasijas de barro sin cocer y vidrio. Más tarde, los griegos y romanos usarán botas de tela, barriles de madera, así como botellas, tarros y urnas de barro cocidos. Ya en 1700-1800 comienzan a utilizarse fuertes botellas de champagne con apretador corchos, tarros de boca ancha y cartuchos de hojalata.

Son muchos los sectores que utilizan envases (sector de la alimentación, construcción, cosméticos, electrodomésticos, etc.) y en su mayor parte estos envases son de un solo uso lo que ha generado una duda respecto a su gestión una vez que estos han sido utilizados. Debido a esto han empezado a surgir normas y leyes que impulsan su reutilización y reciclado de los materiales.

Un envase tiene como función principal preservar, contener, transportar, informar, expresar, impactar y proteger al producto que contiene. Es por ello por lo que se han creado envases innovadores con base a un consumidor más exigente cada día.

1.3 EMBALAJES SINTÉTICOS

La RAE define “**Envase**” como el recipiente o vaso en que se conservan y transportan ciertos géneros o como aquello que envuelve o contiene artículos de comercio u otros efectos para conservarlos o transportarlos.

El concepto de envase regulado en el artículo 2.1 de la Ley 11/1997 define envase como todo producto fabricado con materiales de cualquier

naturaleza y que se utilice para contener, proteger, manipular, distribuir y presentar mercancías, desde materias primas hasta artículos acabados, en cualquier fase de la cadena de fabricación, distribución y consumo. Se consideran también envases todos los artículos desechables utilizados con este mismo fin. Dentro de este concepto se incluyen únicamente los envases de venta o primarios, los envases colectivos o secundarios y los envases de transporte o terciarios.

Junto a esto definiremos “**Envasado**” como un sistema coordinado de preparación de productos para el transporte, la distribución, el almacenaje, la venta al detalle y uso final, o como un medio de asegurar el suministro seguro hasta el último consumidor en condiciones adecuadas a un coste global mínimo. (Franck A. Paine y Heather Y. Paine, traducido al español por Antonio Lopez Gomez, A. Madrid Vicente, ediciones, 1994. “Manual de envasado de alimentos” Pg 15, tabla 1.1 Definiciones de envasado.)

Estos envases deben cumplir más de una función para el alimento a pesar de haberse desarrollado una gran cantidad de procesos físicos y químicos para conseguir estabilizar los alimentos y así preservar sus características iniciales. Sin embargo, el función del envase es primordial en el proceso de conservación siendo ésta una de sus principales funciones a cumplir. Además de esta función, el envase cumple otras como:

- **Función de continente:** El embalaje es primeramente un recipiente con características metrológicas, es decir, que tiene que indicar la masa o volumen del contenido; esta función evoluciona actualmente hacia el fraccionamiento en unidades individuales.
- **Función de representación:** Esta función está encaminada a llamar la atención y seducir al consumidor; también se le denomina función de marketing.
- **Función de información:** Determinada por el etiquetado, indica todo lo que el consumidor debe conocer sobre el producto, sobre todo lo que se va a consumir.
- **Función de servicio:** Señala la presentación del embalaje aportando datos para el mejor manejo por parte del consumidor: frasco pulverizador, frasco espolvoreador, caja autocalentable y demás.
- **Función de seguridad alimentaria:** Se refiere a una posible contaminación o alteración delictiva.

- **Función de conservación y protección:** Es la información de la calidad del producto alimentario frente a los agentes exteriores que pueden alterar los alimentos, porque el embalaje debe ser inocuo químicamente para proteger su contenido.

Así pues vemos que los envases son los pilares principales de las mejoras técnicas de conservación de los alimentos. Encontramos diversos materiales utilizados en el envasado, siendo algunos más usados que otros. A continuación exponemos los principales materiales usados hoy en día.

- **Papel y cartón:** Hasta hace unos años el papel era uno de los materiales más utilizados, pero con el paso del tiempo y el avance tecnológico se ha visto sustituido por la bolsa de plástico. No obstante han ido apareciendo una multitud de variedades de envoltorios sofisticados, más o menos impresos y adornados, que cumplen las normas sanitarias para contener alimentos. Algunos envases de papel y cartón pueden ser reutilizables y aunque estos materiales son biodegradables, su elevado coste energético y ambiental aconseja un uso limitado y preferentemente que se pueda reciclar. Además la porosidad del papel lo hace recomendable para alimentos que necesiten transpirar como los vegetales. Entre los envases de papel y cartón encontramos una amplia gama de tipos de papel:
 - *Papel Kraft:* con pasta de madera blanda.
 - *Papel sulfito:* Mezcla de madera blanda y dura blanqueada.
 - *Papeles a prueba de grasa:* Con pasta muy batida.
 - *Papel glaseado:* Similar al de pasta muy batida pero más sanitario.
 - *Pergamino vegetal:* Tratamiento del papel sin cortar con ácido sulfúrico concentrado.
- **Vidrio:** Este material (fabricado a partir de materiales naturales abundantes como arena sílica, cloruro de potasio, caliza y feldespato) ha sido uno de los materiales clave en el mundo de los envases durante mucho tiempo y a día de hoy sigue siendo un material muy utilizado a pesar de los nuevos materiales desarrollados. Esto se debe a que el vidrio es el material que mejor garantiza la integridad del producto alimenticio pues es una barrera absoluta contra la intemperie, no desprende ni olores ni sabores, y conserva las características organolépticas de los alimentos, pues cuando se usa correctamente no requiere de

conservantes. El consumidor además puede ver a través de él que es lo que compra y/o contiene, lo que es un factor muy importante su venta. No todos los productos se benefician de visibilidad. Si se necesita protección frente a la luz por cualquier razón, se dispone de vidrios de color. El color requerido dependerá de la parte del espectro que se desea eliminar. Lo más común ante la falta de información es usar el vidrio de color ámbar, puesto que tiene dos milímetros de grosor y excluye toda luz con longitud de onda inferior a 450nm. Este material además es impermeable a los gases, vapores, líquidos y es químicamente inerte frente a los alimentos. Es fácil de lavar y esterilizar. Resiste elevadas presiones internas que producen ciertos líquidos que contienen gas carbónico (sidra, cerveza, refrescos, etc.) y permite el paso de las microondas. El vidrio es el único material que cumple con el proceso de reciclaje de forma que continua, para lo cual los desechos de vidrio se lava y después se tritura para ser fundido nuevamente gracias a que no se degrada, por lo que se transforman envases en mal estado en otros nuevos con propiedades fisicoquímicas idénticas a los originales.

- **Metal:** Es el material más resistente. Por sus características puede soportar cualquier proceso de esterilización y es más ligero que el vidrio. Las ventajas principales de metal son su rigidez, ligereza y hermetismo, además de que ofrece un alto grado de conservación de los alimentos, fácil manejo y transporte. El embalaje metálico está particularmente recomendado para una larga conservación gracias a la solidez inerte de sus materiales y a su impermeabilidad a los líquidos, a los gases y a la luz. Particularmente el aluminio, empleado en las latas para bebidas gaseosas, es un material ligero que cumple con gran eficacia las funciones de envasado, transporte y presentación, aunque no es recomendado para contener productos ácidos ni para someterlos a temperaturas muy altas. Además del aluminio encontramos muchos más materiales como:
 - *Aleaciones de aluminio.*
 - *Láminas de acero dulce.*
 - *Hojalata.*
 - *Hojalata con baño de aleación estaño-plomo.*
 - *Láminas de acero dulce galvanizado*
 - *Acero inoxidable.*

- **Plásticos:** A lo largo del último medio siglo ha habido una sustitución gradual en el sector de embalajes de los materiales metálicos, vidrio y madera, por los polímeros provenientes de la industria petroquímica, gracias a su característica de que se pueden polimerizar en capas gruesas o delgadas que originan diferentes materias primas, como el unicel, el polivinilo, las poliolefinas, el poliéster, el policarbonato (garrafrones de agua), los plásticos termófilos (para recubrir el interior de las latas y láminas) o las películas de diferentes clases, como el polietileno. Los envases flexibles de plástico ofrecen varias ventajas como una presentación atractiva, mayor alcance en formas y figuras, son más ligeros y resistentes. En general encontramos una gran cantidad de propiedades distintas y muy variadas en función del plástico que se desarrolle y de las características que tenga lo que nos da muchísimas facilidades a la hora de diseñar envases de materiales plásticos simples o laminados.

Junto a todo este desarrollo en los envases y las mejoras obtenidas en la calidad de vida de los humanos encontramos un aspecto negativo. Todo este desarrollo y transformaciones provocan enormes problemas ambientales como la acumulación de los materiales de desecho que se generan diariamente. A pesar de que la mayoría de los productos plásticos y polímeros sintéticos derivados del petróleo garantizan la protección deseada en diversos tipos de aplicaciones en términos de costo, conveniencia, formatos, marketing y protección física, química y óptica, tienen la desventaja de que no son biodegradables, lo que los hace responsables de gran parte de los residuos contaminantes que se acumulan en la naturaleza. También sabemos que su fabricación requiere un alto costo energético, energía que se pierde en gran medida porque suelen tirarse tras el primer uso y finalmente su destrucción también es muy costosa, energéticamente hablando, y muy contaminante en la mayoría de los casos. Por ejemplo, la incineración de determinados tipos de plásticos es una de las causas de la lluvia ácida que destruye bosques y la salud de los seres humanos. O al abandonarlos a la intemperie, sus cadenas moleculares resienten a romperse por la acción de agentes naturales, razón por la cual generalmente necesitan un promedio de 150 años para degradarse, lo que provoca una contaminación ambiental importante.

El plástico no es el único material que supone altos costes de fabricación. El vidrio también exige un alto consumo de energía y aunque este material está hecho a base de materias primas abundantes, tampoco es biodegradable. Por lo que supone un altísimo impacto ambiental.

Respecto a los envases metálicos se sabe que en torno al 6-9% de la basura que se produce en todo el mundo corresponde a las populares latas de

refrescos. Su recuperación es escasa para posteriores usos y casi no son biodegradables por lo que la única solución viable para las latas es el reciclaje.

Por todo esto, varios países han tenido que reconocer la necesidad de proponer restricciones ambientales basadas en una verdadera política de control de residuos no degradables mediante el principio de las “tres erres / 3R”:

- *Reducir la cantidad de residuos de envases contaminantes.*
- *Reutilizar el material lo más que sea posible.*
- *Reciclarlo para producir nuevos materiales.*

1.4 EMBALAJES BIODEGRADABLES

Con el propósito de disminuir los problemas de la contaminación, se han realizado numerosos estudios para valorar algunos materiales alternativos.

La “**biodegradación**” es un proceso que describe la mineralización de las estructuras orgánicas por las micro-orgánicas. Estos microorganismos, bacterias, hongos, etc. y las enzimas, convierten los bioplásticos en dióxido de carbono, metano, agua y biomasa. Mientras muchos bioplásticos son biodegradables, otros no, los cuáles se pueden llamar 'durables'. Un plástico tradicional basado en recursos fósiles como por ejemplo el etileno no es biodegradable. Algunos plásticos tradicionales modificados son llamados a veces degradables. Por ejemplo, estos pueden contener un aditivo en que el plástico se puede degradar bajo condiciones de ultra violeta y oxígeno. Este fenómeno se conoce como “*fotodegradación de los plásticos*”. Otros pueden contener un aditivo que inicie una degradación bajo condiciones específicas de temperatura y humedad. En este caso, el plástico se denomina como “*plástico oxo-degradable*” pero el proceso de degradación no está iniciado por una acción microbiana.

En ese sentido, surgió el concepto de plástico biodegradable asociado al uso de materias primas renovables que ofrecen un buen control en el medio ambiente después de diversos usos. Los biopolímeros, como también se llama a esas materias primas, son macromoléculas sintetizadas por procesos biológicos o por vía química a partir de monómeros naturales o idénticos a los naturales. El proceso tecnológico más apropiado para la industrialización de los biopolímeros es por extrusión. Este proceso térmico se ha aplicado con éxito en la obtención de diversos materiales manufacturados a base de polímeros de almidón (provenientes de cereales, raíces, tubérculos, etc.) mezclados con

otros materiales orgánicos vegetales y animales, lo que ha generado productos termoplásticos, expandidos, texturizados, espumados, acolchados y otros muchos.

Los plásticos compuestos degradables no proporcionan efectos secundarios como residuos tóxicos para el agua, tierra, plantas u organismos vivos. Actualmente estos plásticos están basados en recursos naturales.

Los polímeros naturales son biodegradables en estado nativo, aunque el ciclo de vida de algunos de ellos es relativamente corto, como en el caso de las ligninas.

Para la obtención de embalajes biodegradables se utilizan diferentes materiales poliméricos como:

- Poliosidos y sus derivados. (celulosa, hemicelulosa, almidón, gomas, lignina, quitina, etc.)
- Polímeros sintéticos biodegradables, como el ácido poliláctico.
- Proteínas. (colágeno, gelatina, y caseína)
- Poliésteres microbianos, como el polihidroxibutirato.
- Combinaciones de almidón con polímeros sintéticos, como el polietileno (PE) o el polivinil.
- Hule natural.
- Todos los polímeros empleados para la fabricación de films comestibles son aceptados como biodegradables.

Por fortuna, en estos momentos diversos investigadores de algunos países están preocupados por evitar la contaminación ambiental y tratan de desarrollar materiales plásticos biodegradables para reducir la basura provocada por los plásticos sintéticos y eliminarlos en un tiempo no muy lejano.

Los polímeros biodegradables y los derivados de monómeros naturales ofrecen las mayores oportunidades, con su biodegradabilidad y compatibilidad medioambiental aseguradas (Swift, 1993).

La industria de la transformación de plásticos apoya la innovación de los bioplásticos que aportan muchas oportunidades para la sociedad como son:

- Ampliación de la materia prima, con la calidad y el precio correcto. Esto mejorará la competencia.
- Uso de procesos de tecnología existentes.

- Nuevo ámbito de negocios, incluyendo un nicho de productos.
- Posible reducción de los fósiles de carbón en el ciclo de la vida del producto.
- Beneficios adicionales para la función de un producto a través de la biodegradabilidad.
- Promociones de ciertos productos como comida para llevar en un embalaje orgánico.

Otro aspecto importante de sus beneficios es que los bioplásticos ofrecen nuevos potenciales para la industria de la agricultura.

La materia prima (la que es renovable) juega un papel muy importante en la fabricación de los bioplásticos, y con ellos, la agricultura obtiene todo un nuevo mercado de alimentos.

Estos envases han de cumplir las características mecánicas, ópticas y de barrera que nos interese en su aplicación correcta. Una de las mayores restricciones al uso de los embalajes biodegradables es la dificultad que supone que los envases sean buena barrera frente a la humedad, debido a la inherente naturaleza hidrofílica de la mayor parte de los polímeros biodegradables.

1.5 PELÍCULAS Y RECUBRIMIENTOS COMESTIBLES

En la mayoría de los casos, película y recubrimiento son términos que se utilizan indistintamente para indicar que la superficie de un alimento está recubierto por una capa relativamente delgada de material de cierta composición. Sin embargo hay que diferenciar estos dos conceptos; un **“recubrimiento (coating) comestible”** es sencillamente una capa delgada de material comestible que se forma en la superficie de un alimento, como un revestimiento sobre el alimento mientras que las **“películas (films) comestibles”** son estructuras preformadas y delgadas elaboradas con materiales comestibles e independientes que se añaden sobre el alimento tras su formación.

El uso de films comestibles aplicados en productos alimenticios está lejos de ser algo innovador, pues se lleva realizando desde hace años, tanto para mejorar la apariencia de los alimentos como para prolongar su vida de almacenamiento (Krochta y col, 1997). Un claro ejemplo de ello lo encontramos en China, en el S.XII-XIII que ya entonces usaban ceras para evitar o reducir la deshidratación de los cítricos, la carne se cubría con grasa para prevenir su

contracción desde el S.XVI. Lo más similar a los films actuales son los films de soja empleados en Asia desde el S.XV para potenciar la apariencia y conservación de algunos alimentos. A partir de 1930, la aplicación más importante de los films y recubrimientos es la que consiste en una emulsión de cera y aceites en agua, que se extiende sobre la superficie de las frutas para mejorar su apariencia, repercutiendo en su color, brillo, textura, control de su maduración y retrasando la pérdida de agua.

Como vemos, las películas comestibles se han empleado desde épocas muy antiguas. Actualmente se les presta mayor atención debido a un creciente interés por los recursos renovables y las mejoras de la conservación de la calidad de los alimentos (Mc Hugh y Krochta, 1994)

Las películas y recubrimientos comestibles tienen diferentes funciones entre las cuales pueden retardar la migración de humedad, controlar el transporte de gases (O_2 , CO_2 y etileno), retener componentes volátiles, servir de vehículo de aditivos, mejorar las propiedades mecánicas y el manejo del alimento, además de impartir una mayor integridad a la estructura del mismo, manteniendo las buenas propiedades mecánicas y organolépticas de los alimentos (Kester y Fennema, 1986). A continuación mostramos en la siguiente figura 1 de forma esquemática los posibles intercambios que se pueden dar entre el alimento recubierto con el film y el exterior

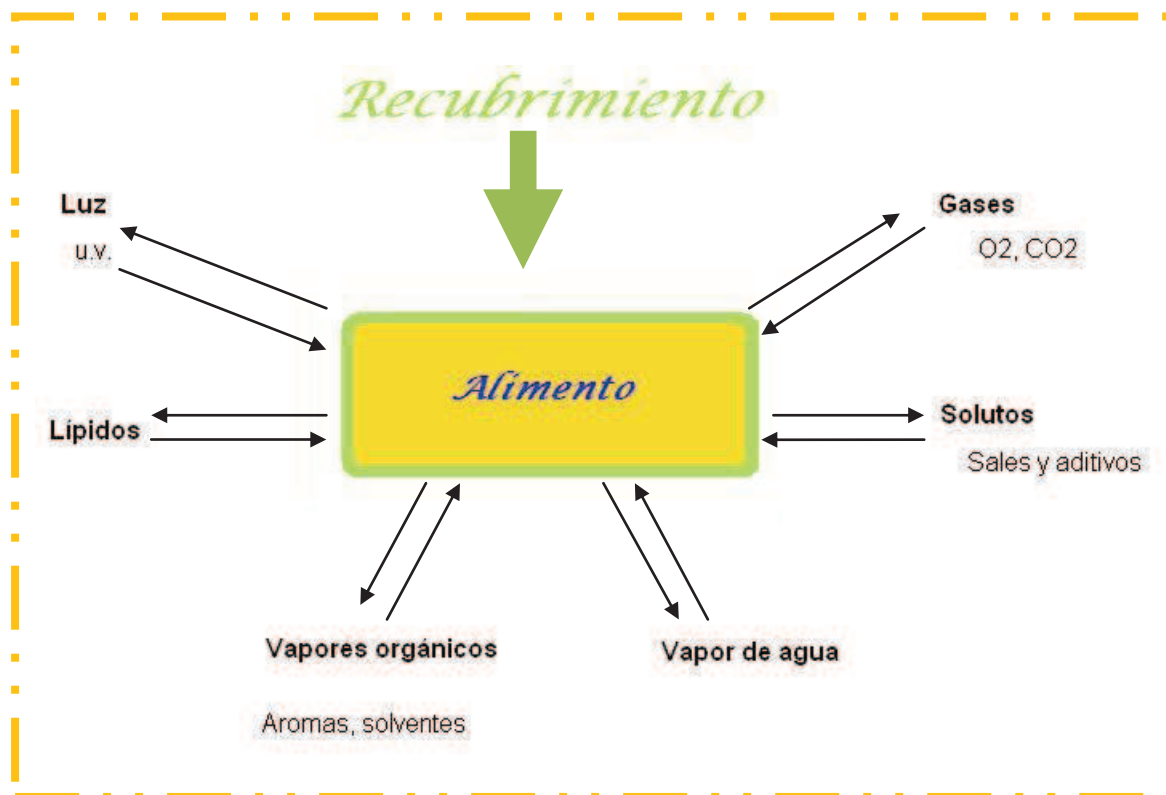


Figura 1: Efecto de la barrera de los recubrimientos comestibles aplicados a alimentos. Adaptado de (Debeaufort y Quezada-Gallo, 1998)

Las películas y recubrimientos comestibles desempeñan una doble función; de embalaje y como constituyentes del alimento para lo cual han de cumplir una serie de condiciones, como son (Greener, 1992; Anker, 1996; Maté, 2001)

- Buenas propiedades sensoriales y organolépticas, compatibles con la naturaleza del alimento.
- Solubilidad y dispersabilidad en su preparación y posterior consumo.
- Propiedades mecánicas y protectoras adecuadas.
- Estabilidad suficiente.
- Buena adhesión a la superficie del alimento.
- Requerimientos sencillos de tecnología.
- Cumplimiento de la reglamentación alimentaria. (sustancias GRAS)
- No toxicidad.

Con todo esto, las películas comestibles poseen también numerosas ventajas: (Guilbert et al., 1986; Anker, 1996)

- *Pueden ser ingeridas por el consumidor.*
- *Su costo es generalmente bajo.* Normalmente son materiales poco costosos, al ser de origen natural y encontrarse fácilmente disponibles. Suponen un coste soportable.
- *Su uso reduce los desechos y la contaminación ambiental.* Al ser material biodegradable colabora en la gestión medioambiental, implicando un menor impacto. Además, un film comestible empleado como recubrimiento, disminuye las necesidades de embalaje. Cuando se abra éste último, el film protege el alimento ante los cambios de humedad, la pérdida de aroma y el enranciamiento por oxígeno, lo cual permite la utilización de envases químicamente más simples, basados en un único polímero, aumentando así su reciclabilidad a la vez que va disminuyendo su coste.

Un recubrimiento con unas propiedades mecánicas adecuadas podría servir como embalajes para determinados alimentos. Estaríamos por tanto disminuyendo la contaminación medioambiental, al sustituir materiales sintéticos por materiales biológicos.

- *Pueden mejorar las propiedades organolépticas, mecánicas, de conservación y nutricionales de los alimentos.* Nos podemos encontrar que sucede en los siguientes casos:
 - Pueden ser usados como barreras a gases y al vapor de agua. Para este propósito se aplican sobre la superficie de los alimentos, como ya se ha comentado anteriormente, restringiendo así la pérdida de humedad y disminuyendo la respiración.
 - Una aplicación potencial de los films es la disminución de la migración de lípidos (aceites y grasas).
 - Ofrecen protección frente a agentes microbianos, así como frente a agentes externos (agua, oxígeno,...)
 - También pueden mejorar las propiedades mecánicas de mantenimiento o la integridad estructural de los productos alimenticios.
 - Los aditivos alimentarios (como antioxidantes, colorantes, antimicrobianos...) pueden ser incorporados dentro de los films comestibles, logrando controlar la localización y la tasa de liberación de los mismos en el alimento.
- *Proporcionan protección individual a pequeñas piezas o porciones de alimento.* Este es el caso del recubrimiento de frutos secos o de pequeñas piezas de chocolate, por ejemplo.
- *Pueden ser usadas en alimentos heterogéneos como barrera entre los componentes.* Consiste en colocarlos dentro del alimento, separando componentes con marcada diferencia en su actividad de agua, y manteniendo así sus respectivas propiedades texturales.

De todas formas, en general, las características funcionales de una película comestible son inferiores que las de los films sintéticos; además, en el caso de una aplicación particular dichas características dependerían de la naturaleza del alimento, de sus propiedades físico-químicas y de su principal vía de deterioro.

1.6 MATERIALES UTILIZADOS HABITUALMENTE PARA LA FORMULACIÓN DE FILMS

Los films se pueden elaborar a partir de diferentes materias primas, a continuación se presentan las más utilizadas habitualmente, clasificadas según su naturaleza.

1.6.1 HIDROCOLOIDES

Los films elaborados a partir de hidrocoloides pueden ser usados en aquellas aplicaciones donde el control de la migración de agua no es el objetivo. Sin embargo, presentan buenas propiedades de barrera frente al oxígeno, dióxido de carbono y los lípidos. La mayoría también poseen propiedades mecánicas deseables, útiles para mejorar la integridad estructural de productos frágiles (Greener, 1992).

Dado su carácter hidrofílico, son solubles en agua caliente, y se disuelven sin alterar las propiedades sensoriales del alimento sobre el cual están aplicados (Fennema y col., 1994).

Dentro de los hidrocoloides se engloba a los carbohidratos y a las proteínas.

- **CARBOHIDRATOS:** Los carbohidratos como son: almidones, alginatos, carragenanos, pectinas, derivados de celulosa, quitosano, gomas, etc.

- **Almidón:** Las películas comestibles de almidón se producen por vaciado o moldeado de una dispersión acuosa gelatinizada de amilasa, seguida por la evaporación del solvente, lo que da lugar a la formación de una película transparente.

Estas películas se usan como recubrimientos comestibles de los alimentos para suministrar una barrera al oxígeno, a los lípidos y para mejorar la apariencia en la textura.

- **Alginatos:** El alginato se obtiene principalmente del alga gigante *Macrocystis Pyrifera*. El alginato forma geles que se usan para la formación de las películas (los más utilizados son los de calcio). Se forman mediante la evaporación de una solución acuosa de alginato, seguido de un ligamiento entrecruzado iónico con una sal de calcio.

Las películas de alginatos se usan en productos cárnicos, actuando éstas como agente sacrificante, es decir, la humedad se pierde de la cobertura antes que el alimento se deshidrate de manera significativa.

- **Carragenatos:** Proceden de las algas rojas, se extraen de forma industrial. Se disuelven en agua caliente formando una solución acuosa del polímero. Esta gelificación ocurre probablemente por la formación de una estructura de doble hélice en forma de red, que se origina mediante la adición de una sal específica, lo cual da lugar a puentes intercatenarios de gran importancia.

Los recubrimientos elaborados a partir de carragenanos retardan la pérdida de humedad.

- **Pectinas:** Son carbohidratos purificados, a partir de la corteza interna de los frutos cítricos. Poseen una alta capacidad de melificar. Las películas o recubrimientos elaborados a partir de pectina ofrecen una alta permeabilidad al vapor de agua.
- **Derivados de celulosa:** La celulosa tiene un origen vegetal, proviene de los tejidos fibrosos de las plantas, por lo que es el más abundante de los materiales orgánicos.

Las películas elaboradas a partir de celulosa no son buenas barreras a los gases ni al vapor de agua, pero son excelentes para la protección de ciertos productos que a humedades altas tienen tasas de respiración elevadas, este material no permite la formación de condensados.

- **Quitosano:** Es un excelente formador de películas. Debido a su buena solubilidad puede ser modificado químicamente en diferentes formas y presentaciones (fibras, películas, cápsulas, recubrimientos). Se obtiene de la desacetilación de quitina presente en los desechos de los mariscos. Es buena barrera frente al oxígeno y frente al dióxido de carbono.
- **PROTEÍNAS:** Las proteínas usadas para la formulación de recubrimientos comestibles pueden ser: caseína, proteína aislada de suero lácteo, colágeno, albúmina de huevo, proteína de pescado, queratina, etc, de origen animal como son:
- **Caseína:** Los casinatos forman fácilmente películas en soluciones acuosas debido a su estructura desordenada. Dan como resultado películas, transparentes, flexibles y de naturaleza blanda.
 - **Proteínas aisladas de suero lácteo:** Se obtienen mediante el calentamiento de soluciones de 8-12%, el secado se realiza a temperatura ambiente. Resultan películas de gran fragilidad, necesitan plastificantes.
 - **Colágeno:** Se encuentra de forma natural en los tejidos animales como tendones, piel y huesos. Las películas de colágeno se desarrollan por extrusión y dispersión de un ácido coloidal. El colágeno ha sido estudiado durante mucho tiempo como recubrimiento para productos cárnicos.

A continuación de algunas de las proteínas de origen vegetal como: zeína, gluten de trigo, proteína de soja, etc...

- **Zeína:** Son aislados de proteína de maíz. A partir de la zeína se desarrollan soluciones alcohólicas dando lugar a películas y recubrimientos con buenas características de permeabilidad al vapor de agua, así como presentan buenas propiedades mecánicas. También posee buenas características frente al termosellado.

Las películas de proteína otorgan un brillo a productos recubiertos, pero sólo la zeína de maíz, ofrece un alto brillo aparente que iguala o incluso supera a los recubrimientos a base de resina (Weller et al. 1.998).

La zeína se ha utilizado comercialmente en productos de confitería y frutos secos. (Krochta, 2002; Jung y Gennadios, 2005). También, para frutos secos ha utilizado ésteres de amilasa con ácidos grasos en una bicapa proteína-ácidos grasos, a estos recubrimientos también se les incluyó zeína para reducir la pegajosidad (Gunnerson y Bruno, 1990).

- **Gluten de trigo:** Este material se ha utilizado como un reemplazo del colágeno, en la manufacturación de recipientes de salsas.
- **Proteína de soja:** Es un compuesto de soja purificada. Se ha estudiado su uso para la formación de bolsas solubles para salsas.

1.6.2 LÍPIDOS

Los films elaborados a base de lípidos se caracterizan por sus excelentes propiedades como barrera frente a la humedad. Dentro de este grupo se incluyen las ceras, resinas, ácidos grasos y monoglicéridos y diglicéridos (Baldwin et al., 1997).

Por ejemplo, las ceras comestibles son más resistentes a la humedad que la mayoría de las películas. Destaca la parafina, que es la más resistente de todas. En las frutas, se aplica una capa de ceras como suplemento en la superficie por si hubiera podido verse alterada en el procesado de la pieza.

Los films lipídicos son empleados con el fin de ser éstos una capa protectora frente a intercambios con el medioambiente o como barrera entre dos compartimentos de un alimento heterogéneo. También su uso está enfocado a ser soporte de aditivos liposolubles, como a procurarles brillo a los productos de confitería. (Kester et al., 1986; Greener, 1992).

Muchos lípidos existen en forma cristalina y sus cristales individuales son altamente impermeables a los gases y al vapor de agua. Aún así, hay que considerar que el permeante puede pasar a través de los cristales y por tanto las propiedades de barrera dependen del empaquetamiento intercristalino. Cuanto más hermética sea la disposición de los cristales, mayor es la

resistencia a la difusión; asimismo los cristales orientados perpendicularmente al flujo permeante proporcionan un mejor efecto barrera que agrupados con otra orientación. (Greener, 1992).

El uso de los lípidos en forma pura como recubrimientos está limitado pues no poseen suficiente integridad estructural ni durabilidad. Su fragilidad hace que requieran ser empleados con una matriz que actúe de soporte. Debido a esto, se dan los films compuestos.

- **FILM COMPUESTO:** Los films compuestos son films con formulaciones mixtas entre hidrocoloides y lípidos, de tal modo, que se pueden combinar las ventajas de ambos, y disminuir sus inconvenientes. (Kester et al., 1986; Greener, 1992; Martin Polo et al., 1992). Por ejemplo, cuando lo que se persigue es una película que sea buena barrera al vapor de agua la porción lipídica puede cumplir esta función, mientras que la durabilidad la proporciona la parte de la formulación que es hidrocoloide.

Los films compuestos pueden ser de dos tipos:

- **Laminados**, se obtienen por superposición de capas formando una bicapa, en general un ácido graso sobre un film de polisacárido.

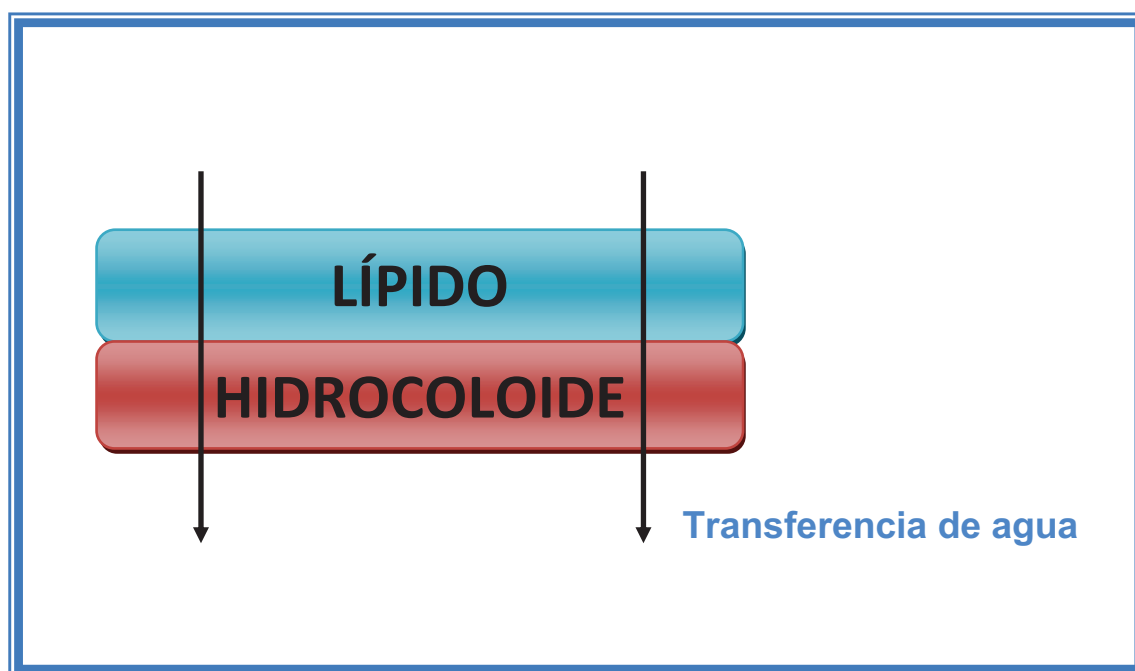


Figura 2: Modelo de películas compuestas, laminadas. Adaptado de (Mendoza, 2009).

Estos ofrecen la ventaja de ser más fáciles de aplicar debido a las distintas naturalezas de la matriz soporte y el lípido, permitiendo por ejemplo, un control separado de las temperaturas de procesado de ambos componentes. (Anker, 1996).

- **Emulsiones o conglomerados**, donde son mezclas heterogéneas de partículas hidrófobas (lípidos) dentro de una matriz hidrofílica (hidrocoloides) obtenidas mediante emulsión o microemulsión.

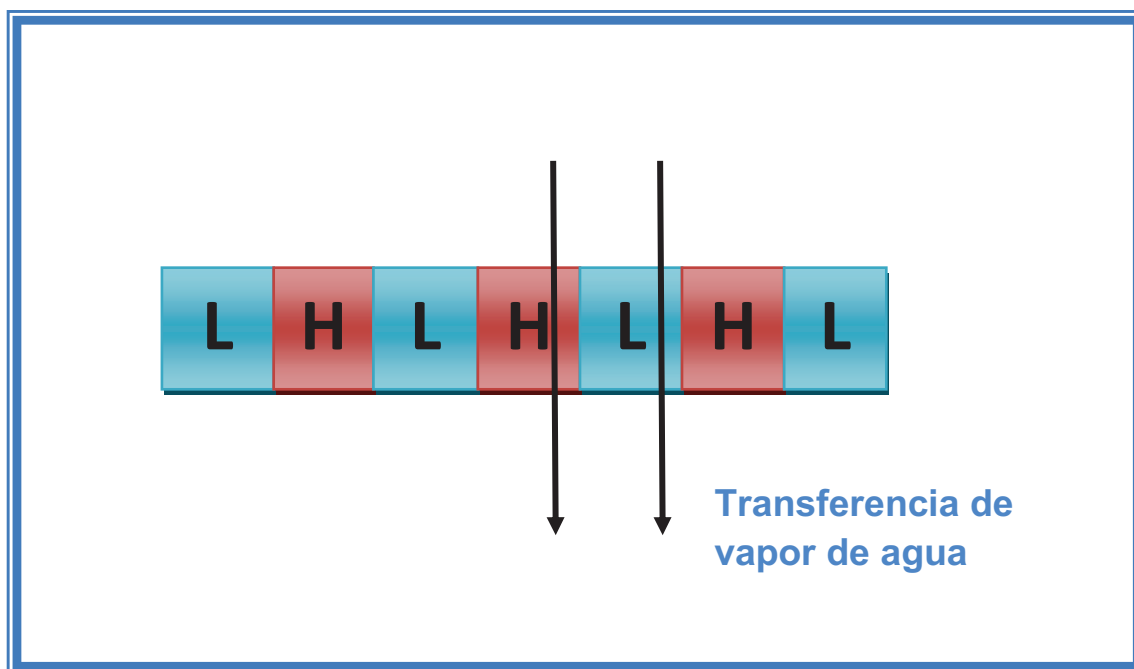


Figura 3: Modelo de películas compuestas, emulsiones o conglomerados. Adaptado de (Mendoza, 2009).

1.6.3 MÉTODOS EN LA FORMACIÓN DE LAS PELÍCULAS COMESTIBLES

Para la formación de las películas se han desarrollado diversas técnicas, bien dando lugar a un recubrimiento sobre el alimento, bien configurando films independientes. A continuación, las cuatro técnicas más comunes:

- **Eliminación del solvente:** Los componentes principales de la película se dispersan en un solvente que posteriormente se elimina en un proceso de secado, donde la temperatura y el tiempo influyen en la cristalinidad resultante y en las propiedades mecánicas. (Krochta y col., 1994).
- **Solidificación de la mezcla:** Es una técnica muy empleada para los films lipídicos, consiste en la solidificación de la masa fundida. Como en el caso anterior, la tasa de enfriamiento influye en estado polimórfico predominante, muy importante, pues de éste dependen las resistencias a las permeabilidades de oxígeno y vapor de agua; así como en el grado de recristalización del film solidificado. (Krochta y col., 1994).

- **Gelificación o coagulación térmica:** Son utilizadas para las películas elaboradas a partir de proteínas, pues se produce un calentamiento de la solución hasta que se desnaturaliza la proteína, lo cual da lugar a una estructura tridimensional ó estado gel. Luego el solvente se elimina por evaporación. También sucede así en algunas películas basadas en polisacáridos, como las de almidón. (Osés, 2006).
- **Extrusión:** Se emplean altas temperaturas, presión y agitación mecánica vigorosa que facilita la integración de los aditivos.
- **Coacervación:** Consiste en un cambio de estado del polímero formador. Puede ser simple o compleja. La primera se da la precipitación del hidrocoloide aplicación de calor, alteraciones del pH, añadiendo solventes. En la compleja se altera la carga, poniendo en contacto dos macromoléculas que se neutralizan entre ellas. Esta no es una técnica muy usada en el sector de la alimentación.

1.6.4 FORMAS DE APLICACIÓN DE LAS PELÍCULAS COMESTIBLES SOBRE LOS ALIMENTOS

La aplicación de los recubrimientos y películas comestibles supone una alternativa a futuro para la conservación de los alimentos. Los procedimientos de aplicación del recubrimiento dependen mayoritariamente del tipo de producto que se desee recubrir.

- **Inmersión (superficies irregulares).**
Es el método más adecuado para productos con superficies irregulares que requieren un recubrimiento uniforme (Baldwin et al, 1997). El producto debe ser lavado y secado previamente, luego se sumerge en la solución de recubrimiento, garantizando un mojado completo. Tras la inmersión, se deja drenar el material sobrante y se procede al secado. Actualmente, se emplea en películas de cera, como frutas y verduras, así como también en carnes, pescados y aves de corral.
- **Spray (superficies lisas y uniformes).**
Con este procedimiento se consiguen recubrimientos más delgados y uniformes que los obtenidos por inmersión. Este método es muy utilizado para superficies lisas y uniformes. La solución se aplica presurizada. Es mediante la regulación de esta presión como se consiguen diferentes tamaños de gota. Esta técnica es la más adecuada cuando buscamos recubrir una sola cara del alimento; por ejemplo, como es el caso de las pizzas, en su cara, cuando llevan salsas húmedas.

Otras variaciones a este método pueden ser la aplicación del recubrimiento por medio de cepillos o rodillos. (Guilbert, 1986).

- **Casting (films independientes)**

Esta técnica permite la obtención de films independientes, de calidad, que facilitan la caracterización e investigación de sus propiedades, para optimizar los resultados, como se hizo en el siguiente estudio.

Consiste en verter solución formadora de film sobre una superficie plana y se procede a su posterior secado. Después el film es retirado de la superficie, de forma independiente. Debido a esto, esta técnica sólo se utiliza cuando el alimento a recubrir posee una matriz estructural suficiente.

1.6.5 APLICACIONES DE LAS PELÍCULAS COMESTIBLES SOBRE LOS ALIMENTOS

Las películas comestibles y recubrimientos se pueden clasificar según la función que se desea desarrollen sobre los alimentos,

Tabla 1: Características del film apropiado en función de su aplicación.

FUNCIÓN	TIPO DE FILM APROPIADO
➤ <i>Retardar la migración de la humedad.</i>	<i>Lípidos y compuestos</i>
➤ <i>Retener los compuestos volátiles responsables del flavor.</i>	<i>Compuestos</i>
➤ <i>Retardar la migración de los gases.</i> ➤ <i>Mejorar la estabilidad estructural o las propiedades de mantenimiento.</i>	<i>Hidrocoloides, Lípidos o Compuestos</i>
➤ <i>Retardar la migración de aceites y grasas.</i> ➤ <i>Retardar la migración de solutos.</i> ➤ <i>Transportar aditivos alimenticios.</i>	<i>Hidrocoloides</i>

1.6.6 PROPIEDADES DE LAS PELÍCULAS Y RECUBRIMIENTOS COMESTIBLES

Dentro de este apartado se van a citar las propiedades barrera a la transferencia de materia (WVP, permeabilidad a gases, permeabilidad a lípidos), propiedades mecánicas (tensión máxima de rotura, elongación relativa, superficiales, así como propiedades generales de los recubrimientos comestibles.

1.6.6.1 Propiedad barrera a la transferencia de materia: En este apartado, se describen las propiedades barrera que están asociadas a la permeabilidad, bien de vapor de agua, de gases o de lípidos, la cual consiste en el proceso de solución y difusión donde el permeante se disuelve en una cara del film.

- **WVP:** Las siglas WVP vienen del inglés Water Vapour Permeability, lo que quiere decir permeabilidad al vapor de agua.

La permeabilidad es la propiedad que tienen las películas plásticas de permitir el paso de gases o vapores a través de su estructura molecular, ya sea hacia adentro o hacia afuera del envase (Guarda y Galotto, 2000).

Existen dos procesos por los que se puede dar el paso a través de materiales poliméricos: uno es el efecto poro en el cual los gases y vapores fluyen a través de microporos, imperfecciones y pequeñas grietas del material. El otro proceso es el efecto de difusión-solubilidad en el cual se disuelven en la superficie de la película, se difunden a través de ella por efecto del gradiente, evaporándose de la superficie y desplazándose a lugares de menor concentración (Robertson, 2006; Guarda y Galotto, 2000). Los principales factores que influyen en la permeabilidad a gases y vapores son la naturaleza del polímero y del permeante, temperatura y espesor del material de envase.

La permeabilidad de una película plástica varía en función del polímero. Los materiales poliméricos presentan un amplio rango de propiedades dependientes de su composición y estructura química, interacción establecida entre éste y la molécula del permeante, el tipo de fuerzas entre las cadenas poliméricas que forman la matriz del film, el grado de cross-linking entre las moléculas, la cristalinidad y la presencia de plastificantes o aditivos y condiciones de procesamiento, factores que afectan las propiedades barrera a los gases y vapores (Jesse et al., 1994; Robertson, 2006, Guarda y Galotto, 2000). Generalmente, la permeabilidad decrece cuando se incrementa la cristalinidad, densidad y orientación de las moléculas durante la formación del film. La disolución y posterior evaporación del permeante dependen de la solubilidad de estos en el film (Pascat, 1986).

La permeabilidad al vapor de agua es una forma de cuantificar la facilidad con que un material puede ser traspasado por el vapor de agua.

De forma más precisa, se podría definir como la cantidad de vapor que pasa por unidad de superficie a través de un material con un espesor determinado por unidad de tiempo, cuando entre sus paredes existe una diferencia de presión unitaria bajo unas condiciones particulares de temperatura y humedad relativa.

Es un proceso de disolución en el que el vapor se disuelve en un lado de la película y entonces se difunde a través del otro lado. No se debe confundir con el transporte a través de poros.

Las películas basadas en compuestos de naturaleza hidrófoba como resinas y ceras, proteínas no solubles en agua, son los más eficaces retardando los intercambios de humedad. Sin embargo, los films de hidrocoloides solubles en agua, se comportan pobres como barrera frente al paso del vapor de agua, debido a que son de naturaleza hidrófila, tienen afinidad por el agua, y permiten su paso, lo cual limita sus aplicaciones. Por esto mismo, es tan importante el estudio de la permeabilidad con profundidad.

Para estudiar la permeabilidad de gases o vapores a través del film se recurriremos a la Ley de Fick, la cual relaciona en la siguiente fórmula matemática la difusión unidireccional de un componente A a través de un film B:

$$J_{Az} = -D_{AB} \frac{\partial C_A}{\partial z}$$

J_{Az} = es el flujo o cantidad de permeante (n) que difunde por unidad de área (A) en un tiempo (t) en la dirección z. $J_{Az} = \frac{A \cdot n}{t}$

D_{AB} = Difusividad de masa molecular del permeante A a través del film B

$\frac{\partial C_A}{\partial z}$ = gradiente de concentración en la dirección z

Se han desarrollado diversas técnicas para realizar la determinación de la WVP como son las basadas en sensores infrarrojos.

- **Técnicas con sensores infrarrojos:** Son los instrumentos capaces de proporcionar datos de WVP rápidamente. Son unos aparatos equipados con sistemas informáticos y una serie de

estaciones para la medición de la transferencia del vapor de agua. Una de las estaciones de carga con el film de referencia, empleado para calibrar y verificar el correcto comportamiento del equipo. El resto de las estaciones para las películas a testar.

El vapor de agua atraviesa el film debido a una fuerza conductora debida a la diferencia de las presiones parciales que hay a ambos lados del film. En una cara del film se da una humedad relativa muy elevada, mientras que en la cara opuesta la humedad es 0%.

Para que se den las condiciones desecantes una corriente de nitrógeno se encarga de arrastrar el vapor de agua que ha difundido a través del film. Un sensor de infrarrojos se encargaría de determinar la humedad relativa que porta la corriente, es a partir de ella que se obtiene la transmisión de vapor de agua (Krochta y col., 1.994). En algunos casos se presentaban problemas de sobrecarga en los sensores dado el carácter hidrofílico de las muestras (Gennadios y col. 1990).

Son unas técnicas muy rápidas pero muy caras.

- **Técnicas coulométricas:** Se basa en el mismo principio que el anterior, es decir la diferencia de humedad en las dos caras de la película. Esta se coloca entre dos cámaras dispuestas verticalmente. La situada en la parte inferior tiene un capa de agua que mantiene la humedad al 100%, mientras en la cámara superior se instala un sensor compuesto por dos electrodos de platino que miden los cambios en la resistencia eléctrica, determinando así las variaciones de la humedad relativa. El principal instrumento basado en esta técnica se denomina Honeywell Tester. Es un procedimiento caro. (Krochta y col., 1994).
- **Técnicas espectrofotométricas:** Su fundamento consiste en colocar un film detector entre dos láminas de la película a ensayar, sellando el conjunto anterior. Este material detector posee un color azul, que va cambiando en función de la humedad relativa. La variación de color se monitoriza con un espectrofotómetro. Sus principales limitaciones son que el film detector a de ser más permeable que el film de testaje, porque si no, sería imposible la medición de las tasas de transmisión, así como también el film que medimos sea translucido, para que lo pueda atravesar la luz. Este método se considera de alta sensibilidad (Krochta y col., 1994).
- **Cromatógrafo de gases:** Se usa como método para medir la transmisión de gases, con lo que también sirve para medir la permeabilidad al vapor de agua (Krochta y col., 1994).

- **Técnicas gravimétricas:** Son las más usadas para la determinación de la permeabilidad del vapor de agua en films comestibles.

Consisten en formar un sistema hermético en el que el film va a sellar un recipiente contenedor con una cantidad controlada de agua o de una solución salina saturada (Water Method), o bien con un desecante (Desiccant Method), dejando un espacio de aire entre la película y el líquido. Este sistema se coloca en una cámara con una humedad relativa y temperatura controlada. A lo largo del tiempo, se van tomando medidas de peso del sistema, para determinar la cantidad de agua, en forma de vapor que atravesó el film (Ander, 1996).

Los test gravimétricos se han estandarizado mediante el método ASTM E96 (1980). Este se basa en las leyes de transmisión de materia de Fick y de Henry. Para ello hay que calcular la transmisión al vapor de agua (WVTR wáter vapor transmisión rate) y la permeación. La WVTR se calcula como el cociente entre la pendiente de la curva de agua con el paso del tiempo y el área del film expuesta. Se determina en condiciones conocidas de espesor, temperatura y gradiente de presión.

La ecuación de WVTR es la siguiente,

$$WVTR = \frac{\text{Pérdida de agua}}{\text{Tiempo} \times \text{Área}} = \frac{g}{h \times m^2}$$

de la cual, dividiendo entre las presiones parciales de vapor de agua en las dos caras del film se deduce la permeación.

$$\text{Permeación} = \frac{WVTR}{P_{A1} - P_{A2}} = \frac{g}{h \times m^2 \times KPa}$$

Las ventajas de emplear este tipo de técnicas es que proporcionan un control de los parámetros experimentales y son de costo relativamente bajo (Mchugh et al., 1.994; Mchugh y Krochta, 1.994).

- **Permeabilidad a los gases:** La permeabilidad a los gases puede ser vista como un factor negativo o positivo dependiendo de la aplicación y la naturaleza del gas permeante. Si se requiere liberar gases producidos por reacciones metabólicas del alimento, es deseable una alta

permeabilidad del material de envase. Un ejemplo de esto, es la difusión de los productos de respiración de frutas y vegetales, como el etileno y dióxido de carbono, al exterior del envase, los cuales están involucrados directamente con los procesos de maduración y senescencia.

El uso de películas de polietileno de baja densidad (PEBD/ LDPE) o películas delgadas de cloruro de polivinilo (PVC) plastificado en ocasiones no son lo suficientemente permeables para evitar la formación de atmósferas bajas en oxígeno y ricas en dióxido de carbono (CO₂) y etileno. Lo anterior puede provocar daño por CO₂ o sobremaduración. Para estas aplicaciones se han tenido que desarrollar películas con microporos o microperforadas que permiten mayor intercambio de gases y son capaces de mantener una atmósfera modificada adecuada para minimizar las reacciones fisiológicas en los tejidos vegetales. En el caso de la carne fresca también se requiere una alta permeabilidad del material para que ingrese el oxígeno, debido a que este gas permite mantener el color rojo deseable del producto.

Por otra parte, si se requiere que el contenido del envase no sufra alteraciones (alimentos altos en grasas insaturadas) por la entrada de gases como el oxígeno, es deseable una baja permeabilidad, así el control de los intercambios gaseosos permite la atenuación de los procesos de oxidación que se dan en determinados alimentos, como el enranciamiento de grasas de cacahuets (Maté y Krochta, 1996). Para productos que se ven afectados por la presencia de este gas, la reducción o la destitución total, junto con la prevención de su entrada al interior, puede llegar a minimizar los efectos oxidativos y por consecuencia, prolongar la vida útil del alimento manteniendo su calidad (Butler, 2002).

El gas de mayor importancia en alimentos envasados es el oxígeno, dado que la vida útil de muchos productos perecederos, tales como la carne, huevos, pescado, frutas, vegetales y alimentos cocinados es afectada por la presencia o ausencia de este gas (Heidmann y Oetterer, 2003). El oxígeno juega un papel crucial en la vida útil de los alimentos, ya que participa en el desarrollo de microorganismos, cambios de color en carne fresca y curada, oxidación de lípidos, y en la respiración de frutas y vegetales (Robertson, 2006). Estos cambios o su combinación provocan alteraciones en el color, olor, sabor y deterioro global de la calidad del alimento. Otros gases importantes de acuerdo a la aplicación de que se trate, son el dióxido de carbono, etileno, alcoholes y nitrógeno.

En el caso de recubrimientos basados en hidrocoloides existe una permeabilidad selectiva a los gases (García et al., 2000), lo cual permite un intercambio gaseoso controlado, prolongando la vida útil del producto, al retrasar la maduración y la senescencia.

Los recubrimientos y películas comestibles elaborados a partir de polímeros naturales, tales como los polisacáridos (almidón y derivados de la celulosa, alginatos, pectinas, gelano, carragenano, etc...), así

como aquellos a base de proteínas, muestran una baja resistencia al agua y poseen pobres propiedades de barrera como consecuencia de su naturaleza hidrofílica (Tang y Paulson, 2000).

Si se incorporan lípidos, que emulsificados en la solución formadora, o formando una doble capa sobre el producto, pueden ayudar a prevenir reacciones de degradación de los alimentos. (Yang et al., 2000; Roja-Grau et al., 2006; Tapia et al., 2008)

Para la detección de la permeabilidad de gases se usan métodos manométricos, sensores volumétricos, ó cromatografía de gases, siendo esta la más sensible.

- **Método manométrico:** Se basa en la caracterización de la transmisión de gas en función de los cambios de presión que este presenta después de ser presurizado sobre el film objeto de estudio. Este film está entre dos cámaras. Es en la segunda donde se obtienen los cambios de presión.

Es un método de difícil calibración, las condiciones del ensayo exigentes, pues ha de estar a una humedad relativa de 0% durante el ensayo. Muchos films comestibles no pueden ser ensayados por este método pues resultan frágiles ante la presión ejercida por el gas. Esta técnica se denomina Técnica Dow Cell (ASTM, 1.988).

- **Método volumétrico:** Se hace referencia a él comúnmente como Linde Cell (ASTM, 1.988). Se basa en un sistema similar al anterior, solo que en vez de cambios de presión lo que se determinan son los cambios de volumen en la segunda cámara. Como para el caso anterior, también sus condiciones de ensayo son alejadas de las reales, además de tener una sensibilidad que es baja, prácticamente no se emplea.
- **Cromatógrafo de gases:** Se basa en la cantidad de gas que difunde a través del film con el paso del tiempo. Como en los dos casos anteriores, consiste en dos cámaras separadas por la muestra del film que se va a caracterizar. Se inyectaría el gas y se deja difundir hasta la segunda cámara que está sellada. A intervalos de tiempo se van tomando muestras de ésta y se analizan por cromatografía de gases.

La presión total dentro de las cámaras se mantiene constante, pues se va inyectando el mismo volumen que cuando sacamos la muestra con otro gas, nitrógeno, por lo normal. Presenta una sensibilidad mejor que la de los métodos manométricos y volumétricos y su coste es relativamente bajo.

- **Permeabilidad a los lípidos:** Muchos componentes de films comestibles son hidrofílicos, por lo que les confiere la propiedad de ser buenas barreras a los lípidos (a bajas humedades relativas). Es una propiedad interesante para aquellas aplicaciones que requieran un control de la migración de lípidos.

No hay equipos para caracterizarlo, aunque sí existe un método estandarizado para su determinación como el ASTM F119 (1982). Nelson y Fennema (1991) fueron los primeros en desarrollar células de permeabilidad a los lípidos en films de celulosa.

- **Método de la tasa de migración:** Consiste en colocar un parche de algodón impregnado con grasa por uno de sus lados, midiendo el tiempo hasta observar un cambio visual debido al mojado. Se usa para medir la migración de una grasa en materiales barrera flexible, la tasa de penetración de la grasa, no la permeabilidad de la misma.

Es un método rápido, sencillo, barato y detecta migraciones en muy bajas concentraciones. La desventaja del método es que es difícil de reproducir, además de muy dependiente del operador.

- **Método de la permeabilidad:** Se trata de un instrumento construido por Nelson y Fenenma (1991), que está constituido por un sistema de dos cámaras contenedoras de dos aceites diferentes separadas por la película a estudiar, colocadas entre dos láminas de acero inoxidable. Las muestras de ésta última cámara son analizadas al principio y al final del ensayo y la tasa de migración de lípidos se determina empleando un espectrofotómetro.

1.6.6.2 Propiedades mecánicas: Es muy importante que el film o el recubrimiento comestible tenga unas buenas propiedades mecánicas, pues, por mucho que dé resultados óptimos en las propiedades anteriores, de nada serviría si éste no va a conservar una mínima integridad durante el manejo, el embalaje y el transporte (Debeaufort y col., 1.998). Para que sea bueno, tiene que tener una fuerza mecánica adecuada, además de estar exento de defectos así como roturas o poros.

Las propiedades mecánicas de los recubrimientos y películas comestibles dependen en gran medida del tipo de material empleado en su elaboración, especialmente de su grado de cohesión, es decir, la habilidad del polímero para formar muchos puentes moleculares entre las cadenas poliméricas y que éstos sean estables (Biquet y Guilbert, 1.986; Guilbert et al., 1.996).

Las interacciones entre el material formador de la película con otras sustancias como agua, plastificantes, lípidos y otros aditivos dispersos en la matriz, influyen notablemente en su comportamiento mecánico (Anker, 1996).

Se considera que las propiedades mecánicas del film son buenas cuando se obtiene un equilibrio en la estructura química del film, para lo cual, los factores importantes son la tensión máxima (máxima tensión que puede soportar el film antes de romperse), el porcentaje de elongación (porcentaje en que ha cambiado la longitud original del film) y el módulo de elasticidad (cociente entre la tensión y la elongación en la región elástica, medida de la rigidez de la película) (Osés, 2006).

Para determinar las propiedades mecánicas se realiza de acuerdo a la norma (ASTM D882, 2.000). Mediante este método se permite estudiar el efecto de las variables tales como la humedad relativa, temperatura o cantidad de plastificantes u otros aditivos en la composición de las películas sobre las características mecánicas de las películas (Mchuhg et al., 1.994). Se conoce que un aumento del contenido de plastificante conducirá a una disminución de la fuerza de tensión y del módulo elástico (Gennadios et al., 1.994).

Es muy importante controlar la humedad relativa ambiental en el momento del ensayo, pues el agua actuaría como un plastificante. Así los films acondicionados a 50% de HR son más débiles que los acondicionados a una humedad menor. El agua es el plastificante más común, y muy difícil de regular en películas hidrofílicas. Por tanto, la humedad ambiental a la que se ensayen los films comestibles puede cambiar significativamente la fuerza original del mismo (Chen, 1995).

Como la humedad hay dos factores intrínsecos del propio recubrimiento que afectarían a las propiedades mecánicas. Estos son el espesor de la muestra y su contenido en plastificante. El espesor de la muestra también influye en los resultados obtenidos, pero se puede controlar variando la cantidad de la solución vertida sobre la placa y el área de la misma usada para la obtención del film. El contenido de plastificante que presenta el film en su formulación afecta al film de forma proporcional, así pues un aumento en la concentración de plastificante conduce a una menor fuerza de tensión y a una mayor elongación.

1.6.6.3 Propiedades generales

- **Propiedades sensoriales:** Las propiedades sensoriales son los atributos de los alimentos que se detectan por medio de los sentidos y son, por tanto, la apariencia, el olor, el aroma, el gusto y las propiedades quíestésicas o texturales.

Teniendo presente que la apariencia representa todos los atributos visibles de un alimento, se puede afirmar que constituye un elemento fundamental en la selección de un alimento.

Por todo esto, se están investigando y desarrollando recubrimientos que aporten ciertas características organolépticas de interés sensorial para el producto que vayan a recubrir. Como es el caso de los films con los que se ha trabajado en el presente trabajo, pues al añadir aceites esenciales se aporta a su vez, también los sabores que pueden resultar un objeto de reclamo para el alimento. Como también se estudian recubrimientos que sean totalmente imperceptibles, es decir, transparentes, que no otorguen sabor ni olor diferente al del alimento, para no ser detectados durante su consumo.

- **Libres de tóxicos y ser seguros para la salud:** A lo largo de todo el estudio se ha hablado de películas y recubrimientos comestibles, por lo que es de relevada importancia que las películas y recubrimientos sean seguros para la salud, como también estén exentos de tóxicos, o cualquier característica que pusiera de manifiesto algún riesgo para la alimentación humana.
- **Deben requerir una tecnología simple para su elaboración:** Es interesante conseguir una formulación y un método de elaboración de la película que sea de simple reproducción, para que resulte asequible su aplicación tecnológica al sistema de producción.
- **Bajo costo de materias primas y coste de producción:** Como sucede con las propiedades anteriores, es de relevada importancia buscar una combinación de materias primas y coste de producción asequible, recordando que el recubrimiento posee una función de protección, no es el alimento final en sí.
- **Otras propiedades** (*isoterma de sorción de agua, color, opacidad, difusividad de los solutos dentro de los film y la solubilidad*): Existen muchas otras propiedades que se estudian en los films con el fin de caracterizarlas para una mejor comprensión de sus propiedades mecánicas y de barrera. Como son el estudio de las isotermas de sorción de agua, color, opacidad, difusividad de solutos dentro de los film y la solubilidad.

Hay un abanico muy grande de combinaciones posibles de determinadas propiedades (mecánicas P.ej, resistencia a la tracción; barrera P. ej, permeabilidad al vapor de agua) para ofrecer diferentes configuraciones atendiendo a la demanda de requisitos del producto.

Por ejemplo, para una aplicación de un film sobre frutos secos no nos interesaría el paso del oxígeno, porque se producirían enranciamientos oxidativos. Pero, por el contrario, para otros alimentos sí que nos interesaría su paso.

1.6.7 ADITIVOS

Los aditivos son componentes de las películas y de los recubrimientos que pueden generar diferentes acciones dentro de los mismos, éstos pueden ser tecnológicos o funcionales. Los primeros son los que le otorgan al recubrimiento una propiedad mecánica, mientras que los funcionales la característica es un comportamiento.

1.6.7.1 Aditivos tecnológicos

- **Plastificantes:** Un plastificante es una sustancia no volátil con un alto punto de ebullición que cuando se añade a un polímero modifica las propiedades fisicoquímicas y mecánicas del mismo (Banker, 1966). Los plastificantes actúan debilitando las fuerzas intermoleculares entre las cadenas poliméricas adyacentes de los diferentes bio-polímeros, lo que hace que las películas seas más flexibles y con menor fuerza de tensión (Guilbert, 1986). Esta reducción en las uniones internas implica a su vez una menor cohesión del conjunto y una malla estructural más espaciada, que facilita la difusión de los gases y el vapor de agua a través del film. (Greener, 1992; Park, 1995; Krochta et al., 1996).

El plastificante más efectivo es aquel que más se asemeja químicamente al polímero que plastifica (Hernández-Izquierdo y Krochta, 2008). También es muy importante que el polímero y el plastificante tengan solubilidades similares con respecto al solvente utilizado para la obtención de la película.

Como también es de relevada importancia que el plastificante permanezca en la matriz del recubrimiento, pues influye en la estabilidad física y mecánica de éste. (Osés, 2006).

Los plastificantes más utilizados en recubrimientos y películas comestibles son polioles (glicerol, sorbitol y polietilenglicol), oligosacáridos (sacarosa, glucosa y fructosa) y lípidos (ácidos grasos y monoglicéridos). El agua también actúa como plastificante en las películas hidrofílicas y su contenido se ve afectado por la humedad relativa ambiental (Gontard et al., 1993).

- **Surfactantes:** Un surfactante es aquella sustancia o producto que reduce la tensión interfacial entre dos superficies en contacto. Existen tres grupos de surfactantes en función de su estructura molecular: aniónicos, iónicos y catiónicos.

Su presencia confiere estabilidad a las emulsiones y mejora la adhesión del recubrimiento sobre el producto que sea aplicado. Se comportan como agentes activos. Su adición implica una disminución en la tensión superficial, por lo tanto un aumento en la mojabilidad, que mejora el recubrimiento de la solución sobre el alimento. La mayor parte

de los surfactantes también imparten flexibilidad, pues debilitan las fuerzas intermoleculares.

Poseen un carácter anfipático, es decir, presentan una parte hidrofílica o polar y otra lipofílica o apolar. Por lo tanto, al agregar surfactantes a una emulsión, la fracción hidrofílica presentará afinidad por solventes polares y la fracción lipofílica presentará tendencia por los solventes apolares. (Trezza y Krochta, 2000).

1.6.7.2 Aditivos funcionales: En este apartado se reflejan los aditivos que se caracterizan por dotar al recubrimiento de practicidad.

- **Acidificantes:** Son aquellos compuestos que poseen la propiedad de comunicar sus cualidades ácidas a los demás cuerpos.
- **Antimicrobianos:** Son agentes añadidos con la intención de retardar el crecimiento de levaduras, mohos y bacterias.

Usualmente existen límites a la cantidad que se puede añadir de un conservante y la de conservantes totales. Los conservantes alimentarios, a las concentraciones autorizadas, no matan en general a los microorganismos, sino que solamente evitan su proliferación. Por lo tanto, solo son útiles con materias primas de buena calidad.

Entre ellos están:

- Sorbato sódico (E-201)
- Sorbato potásico (E-202)
- Ácido sórbico (E-200)
- Sorbato cálcico (E-203)
- Ácido benzoico (E-210)
- Benzoato sódico (E-211)
- Benzoato potásico (E-212)
- Benzoato cálcico (E-213)
- Nisina (E-234)
- Cloruro sódico (sal común)
- **Antioxidantes:** Se añaden para incrementar la estabilidad y mantener el valor nutricional y color de los productos alimenticios protegiendo frente al enranciamiento, la degradación y la decoloración oxidativa (Park et al., 1996a).

La oxidación de las grasas es la forma de deterioro de los alimentos más importante después de las alteraciones producidas por microorganismos. La reacción de oxidación es una reacción en cadena, es decir, que una vez iniciada, continúa acelerándose hasta la oxidación total de las sustancias sensibles. Con la oxidación, aparecen olores y sabores a rancio, se altera el color y la textura, y desciende el valor nutritivo al perderse algunas vitaminas y ácidos grasos poliinsaturados. Además, los productos formados en la oxidación pueden llegar a ser nocivos para la salud.

Principalmente se emplean ácidos, como el cítrico o el ascórbico, y sus ésteres y compuestos fenólicos (Del Nobile et al., 2008).

La mayoría de los productos grasos tienen sus propios antioxidantes naturales. Las grasas vegetales son en general más ricas en sustancias antioxidantes que las animales. También otros ingredientes, como ciertas especias (el romero, por ejemplo), pueden aportar antioxidantes a los alimentos elaborados con ellos.

Los antioxidantes pueden actuar por medio de diferentes mecanismos:

- Deteniendo la reacción en cadena de oxidación de las grasas.
- Eliminando el oxígeno atrapado o disuelto en el producto, o el presente en el espacio que queda sin llenar en los envases, el denominado espacio de cabeza.
- Eliminando las trazas de ciertos metales, como el cobre o el hierro, que facilitan la oxidación.

Los que actúan por los dos primeros mecanismos son los antioxidantes propiamente dichos, mientras que los que actúan de la tercera forma se agrupan en la denominación legal de "*sinérgicos de antioxidantes*", o más propiamente, de *agentes quelantes*. Los antioxidantes frenan la reacción de oxidación, pero a costa de destruirse ellos mismos. El resultado es que la utilización de antioxidantes retrasa la alteración oxidativa del alimento, pero no la evita de una forma definitiva. Otros aditivos alimentarios (por ejemplo, los sulfitos) tienen una cierta acción antioxidante, además de la acción primaria para la que específicamente se utilizan.

- **Enriquecimiento nutricional:** Actualmente se está estudiando la posibilidad de incluir en el recubrimiento o película ciertos componentes como vitaminas o nutrientes extras del cual puede ser carente en el alimento (Bravin et al., 2006). La técnica normalmente utilizada es la microencapsulación, que consiste en atrapar partículas sólidas, gotas líquidas o gases dentro de recubrimientos poliméricos finos, que proporciona protección a los aditivos encapsulados y permite su liberación controlada. Alguno de los materiales que se usan para la producción de cápsulas son gomas, almidón, como sus derivados. (Debeaufort et al., 1998).

Así como también se están desarrollando estudios que incorporan colorantes, aromas, especias o hierbas aromáticas, ácidos, azúcares o sales en los recubrimientos y películas, para darle al film una carga organoléptica. Es el desarrollo de los estudios de envases activos.

1.6.7.3 Especies: Las especias son aromatizantes de origen vegetal que se utilizan para preservar, sazonar y potenciar el sabor de los alimentos. Técnicamente se considera una especia a las partes duras, como las semillas o cortezas, de ciertas plantas aromáticas.

Debido a sus propiedades aromatizantes es posible que alimentos insípidos o desagradables, aunque muchas veces nutritivos, pasen a ser gustosos y sabrosos sin perder sus propiedades nutritivas. Muchas de ellas deben tomarse con precaución ya que pueden resultar tóxicas en concentraciones elevadas.

Su gran capacidad para potenciar el sabor permite que se consigan grandes efectos aromáticos y sabrosos en los alimentos con cantidades muy pequeñas. No suelen presentar aportes nutricionales, salvo raros casos en los que hay presentes minerales, como calcio o hierro, o alguna vitamina.

Es interesante destacar el efecto que tienen sobre el apetito. Se pueden clasificar las hierbas y especias en dos grupos, las que modifican, tanto el sabor, como el aspecto de los alimentos, en este grupo estarían el azafrán, la canela, el tomillo y el romero, entre otros; y las que excitan el paladar, entre las que se encuentran la pimienta, el pimentón, la nuez moscada.

- **Orégano y Carvacrol:** Del latín *Origanum*, en un estudio comparativo, el orégano encabeza la lista de hierbas aromáticas curativas. Las especias pertenecientes a la familia del orégano son las que ejercen un mayor efecto antioxidante en el reino vegetal. En general el orégano tiene hasta 20 veces más contenido en antioxidantes que las demás hierbas estudiadas. (Shiow y Wang).

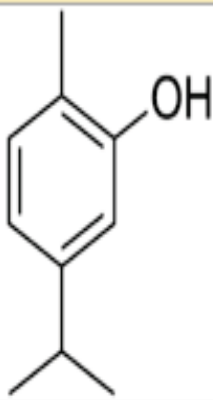
Carvacrol	Properties	
	Molecular formula	C ₁₀ H ₁₄ O
	Molar mass	150.217 g/mol
	Density	0.9772 g/cm ³ at 20 °C
	Melting point	1 °C, 274 K, 34 °F
	Boiling point	237.7 °C, 511 K, 460 °F
IUPAC name 5-isopropyl-2-methylphenol 2-Methyl-5-(1-methylethyl)-phenol	Solubility in water	insoluble
	Solubility	soluble in ethanol, diethyl ether, carbon tetrachloride, acetone
$\text{C}_6\text{H}_3\text{CH}_3(\text{OH})(\text{C}_3\text{H}_7)$		

Figura 4: Estructura química y características químicas del Carvacrol.

El orégano silvestre contiene altos niveles de calcio, magnesio, zinc, hierro, potasio, cobre, boro y manganeso. También contiene vitaminas C y A (betacaroteno) y niacina.

En China, el Carvacrol ha sido aprobado por el Ministerio de Agricultura, como un aditivo antibacteriano de la alimentación. El producto parece promover la asimilación del alimento y de mejorar la eficacia de la alimentación, debido a sus efectos positivos en la digestión. Es de bajo costo y alta ventaja económica.

- **Clavo y Eugenol:** Del latín *Eugenia caryophyllata Thunb.* Posee un abundante aceite esencial (15-20%), rico en eugenol (80-85%), acetileugenol, cariofileno, pineno, cariofilina, salicilato de metilo. Taninos (10-13%), mucilagos. Fitosteroles: sitosterol, estigmasterol y campesterol.

El agente activo le confiere una acción fuertemente antibacteriana, antifúngica, carminativa, estimulante del apetito y la digestión, expectorante y, a nivel local, antiinflamatoria, cicatrizante y analgésica.

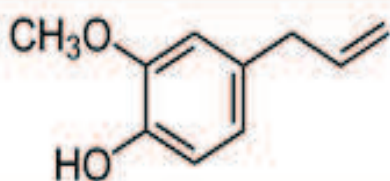
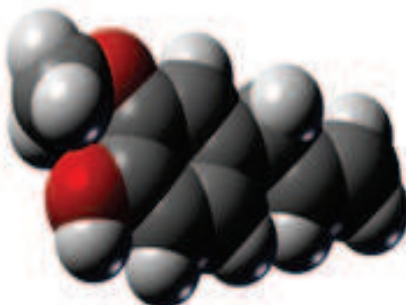
Eugenol	
	2-Methoxy-4(2-propenyl)phenol Eugenol Eugenol Caryophyllol 1-Allyl-3-methoxy-4-hydroxybenzene Allylguaiacol 2-Methoxy-4-allylphenol 4-Allylcatechol-2-methyl ether 2-methoxy-4(2-propen-1-yl)phenol
	Properties
	Molecular formula C ₁₀ H ₁₂ O ₂ Molar mass 164.20 g/mol Density 1.06 g/cm ³ Melting point -7.5 °C, 266 K, 19 °F Boiling point 254 °C, 527 K, 489 °F Acidity (pK_a) 10.19 at 25 °C
IUPAC name 4-Allyl-2-methoxyphenol	Hazards
	Flash point 104 °C

Figura 5: Estructura química y características químicas del Eugenol.

1.7 PELÍCULAS COMESTIBLES DE PROTEÍNA AISLADA DE SUERO LÁCTEO (WPI)

La proteína de suero lácteo es uno de los principales productos que se obtienen durante el proceso industrial del queso y la caseína. La leche tiene un 6.25 % de proteínas de las cuales el 20% corresponden al suero y el 80 % al caseinato. Hasta hace relativamente poco tiempo, el suero estaba considerado como producto de desecho pero, actualmente, se sabe que tiene un enorme valor Biológico (VB), además de contener una cantidad de lactosa muy reducida.

El suero lácteo contiene lactosa, minerales, vitaminas y proteínas principalmente beta-lactoglobulina (~65%), la alfa-lactoalbumina (~25%). Mediante la ultrafiltración del suero se obtiene un concentrado de proteína (WPC), si se agregan pasos de diafiltración al sistema de ultrafiltración se desnaturaliza la proteína obteniéndose la proteína aislada del suero de la leche (WPI). (Krochta, 2002).

Los recubrimientos hechos a base de proteínas son flexibles, transparentes y presentan excelentes propiedades de barrera a los gases, sin embargo, la resistencia que presenta al vapor de agua es pobre debido a su naturaleza hidrofílica. La adición de lípidos a estos films mejoran sus propiedades barrera a la humedad al aumentar la hidrofobicidad de las películas. (Pérez-Gago y Krochta, 2002). Gontard et al. (1996).

Estas películas de WPI se realizan desde algunos años mediante el calentamiento de soluciones acuosas de proteínas entre los 75-100°C (Krochta, 1997). Al secarse la solución a temperatura ambiente se forma la película. El tratamiento térmico es fundamental para la obtención de una película en buenas condiciones, además se le adicionan plastificantes como aditivos para inferir flexibilidad al film y corregir de esta manera su fragilidad o facilidad para quebrarse.

En resumen, las películas comestibles de WPI presentan una buena barrera al oxígeno debido a su estructura firme y compacta de puentes de hidrógeno (Mchugh, 1994). La principal aplicación de esta propiedad es que reducirá el enranciamiento oxidativo en el producto que recubra.

1.8 RECUBRIMIENTOS ANTIMICROBIANOS

La contaminación microbiana reduce la vida útil de productos de alimentación y aumenta el riesgo de enfermedades alimentarias. Los métodos tradicionales para conservar los alimentos del efecto de crecimiento microbiano incluyen: proceso térmico, secado, congelación, refrigeración, irradiación, envasado en atmosfera modificada y adición de agentes antimicrobianos o

sales. Desgraciadamente, algunas de estas técnicas no se pueden aplicar a todos los productos de alimentación, como carne fresca y productos “listos para comer”.

El envasado antimicrobiano es una forma prometedora de envasado activo. El empleo de películas que contienen agentes antimicrobianos podría ser más eficiente, por la migración lenta de los agentes de material de envasado a la superficie del producto. Esto ayuda a mantenerlos a altas concentraciones donde son necesarios. Si un antimicrobiano puede ser liberado del envasado durante un periodo ampliado, la actividad también puede ser ampliada en el transporte y la fase de almacenaje de distribución de alimentos. (Quintavalla y Vicini, 2002)

Las sustancias antimicrobianas incorporadas en el envasado pueden controlar la contaminación microbiana reduciendo la tasa de crecimiento y el máximo crecimiento de la población y extendiendo la fase logarítmica del microorganismo objetivo o por inactivación de microorganismos por contacto (Jung, 2000)

1.8.1 TIPOS DE SUSTANCIAS CON PROPIEDADES ANTIMICROBIANAS

Los antimicrobianos son sustancias que pueden inhibir o detener el crecimiento de microorganismos; estos pueden ser de origen natural (animal, vegetal y microbiano) o sintético (ácidos orgánicos y ésteres).

En las industrias alimentarias hay distintos tipos de sustancias con propiedades antimicrobianas:

- **Aceites esenciales:** Los aceites esenciales (A.E.) son compuestos lipídicos muy olorosos obtenidos mediante la extracción de diferentes partes de plantas (flores, yemas, semillas, hojas, ramas, corteza, hierba, madera, frutos, raíces, etc.) usando solventes orgánicos o técnicas como la destilación. Estos aceites están compuestos por mezclas de ésteres, aldehídos, cetonas, terpenos, hidrocarburos cíclicos y alcoholes. Además son compuestos muy solubles en alcohol pero poco solubles en agua.

La acción antimicrobiana de los aceites esenciales, al tener un gran número de compuestos, no se atribuye a un único mecanismo, sino a varios debido a los múltiples blancos en la célula. Una característica importante de los aceites esenciales es su hidrofobicidad, característica que les permite unirse a los lípidos de la membrana celular desestabilizando su estructura y aumentando su permeabilidad, generando la salida de iones, metabolitos y demás moléculas que pueden conllevar a la muerte. Estudios demuestran que la mayoría de las propiedades antibacterianas frente a microorganismos patógenos por

parte de los A.E se debe en un alto porcentaje a los compuestos fenólicos como el timol, el carvacrol y el eugenol presentes en estos.

- **Ácidos orgánicos y sus sales:** Es importante señalar que los ácidos ejercen sobre los microorganismos dos tipos de efectos distintos, aunque estrechamente relacionados. En primer lugar, existe un efecto antimicrobiano debido a la acidez en sí, esto es, a la bajada del pH extracelular. El segundo tipo, más importante en la práctica, es el efecto antimicrobiano específico debido a la forma no disociada.
- **Bacteriocina:** Las bacteriocinas son producidas por diferentes bacterias y poseen diferentes modos de acción, espectros antimicrobianos y propiedades químicas. La Nisina, es la bacteriocina más conocida. La Nisina es un polipéptido de naturaleza anfifílica producido por bacterias del grupo *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, capaz de inhibir el desarrollo de un amplio espectro de bacterias Gram-positivas como *L. monocytogenes* y *S. aureus*. Es empleada comúnmente en la conservación de queso y se ha estudiado su actividad antimicrobiana en carnes, verduras carnes y otros productos lácteos.

La Nisina afecta a la permeabilidad de la membrana citoplasmática a través de la formación de poros provocando la salida de compuestos pequeños o altera la fuerza motriz de protones necesaria para la producción de energía y síntesis de proteínas o ácido nucleicos (Pintado et al., 2009). Como otros agentes antimicrobianos, la nisina es más efectiva en condiciones ácidas, debido a su mayor estabilidad, solubilidad y actividad a menor pH (Pintado et al., 2009).

Los efectos inhibitorios de la nisina pueden ampliarse al grupo de bacterias Gramnegativas gracias a su combinación con agentes quelantes como EDTA o lisozima capaces de alterar la permeabilidad de la membrana externa de las bacterias (Gadang et al., 2008). Se ha aplicado con éxito en películas y recubrimientos comestibles (PSI, WPI, etc.)

Existen otros antimicrobianos utilizados además de los citados anteriormente como son extractos vegetales, lisozima, lactoferrina, ovotransferrina, etc.

1.8.2 ACEITES ESENCIALES

Los aceites esenciales, resinas, extractos y especias son conocidos y utilizados desde la antigüedad en gran número de aplicaciones: perfumes, ambientadores, cosméticos y fármacos. Entre los siglos XVI y XVII se dan a conocer la mayor parte de los aceites esenciales de que se dispone en la actualidad. Con la llegada de la medicina moderna, la utilización de vacunas y antibióticos sustituyó a los antiguos remedios basados en aceites esenciales, aunque desde el siglo XIX su demanda creció hasta hacer necesaria la

industrialización de la producción debido a su empleo masivo en perfumes y sabores para alimentación (Ortuño, 2006).

Los aceites esenciales son mezclas de varias sustancias químicas sintetizadas, semillas y ciertos extractos de origen animal. Son intensamente aromáticos, no grasos y volátiles. Los aceites naturales de un número importante de especies vegetales, por ejemplo de los géneros *Cytrus*, *Thimus*, *Salvia*, *Mentha*, *Rosmarinus*, *Abies*, *Pinus*, *Lavandula*, entre otros, han sido evaluados por su capacidad antifúngica, y algunos de los componentes terpénicos responsables de esta actividad han sido identificados, entre ellos destacan el carvacrol, el p-anisaldehído, la l-carvona, el eugenol o la d-limolina. La actividad antifúngica de los aceites esenciales está ampliamente documentada por distintos autores (Reuveni et al., 1984; Deans y Ritchie, 1987; Alankararao et al., 1991; Baruah et al., 1996; Gogoi et al., 1997; Pitarokili et al., 1999; Meepagala et al., 2002). En este proyecto, los aceites que empleamos son:

○ **CARVACROL**

Carvacrol, o cymophenol, $C_6H_3CH_3(OH)$ (C_3H_7), es un monoterpenoide fenol componente activo de *Origanum vulgare*, el aceite de tomillo, el aceite obtenido de Rompepiedras y bergamota salvaje. El aceite esencial de tomillo subespecie contiene entre 5% y 75% de carvacrol, mientras que Satureja (salados) subespecies tienen un contenido de entre el 1% y el 45%. El *Origanum* especies majorana y Dittany de Creta son ricos en carvacrol, el 50% respectivamente. 60-80%.

Propiedades biológicas y el uso: Carvacrol inhibe el crecimiento de varias bacterias cepas, por ejemplo, *Escherichia coli* y *Bacillus cereus*. Su baja toxicidad, junto con su agradable sabor y olor sugiere su uso como aditivo alimentario para prevenir la contaminación bacteriana. En *Pseudomonas aeruginosa* que ocasiona daños a la membrana celular de estas bacterias y, a diferencia de otros terpenos, inhibe la proliferación de este germen. La causa de las propiedades antimicrobianas se cree que es ruptura de la membrana de bacterias.

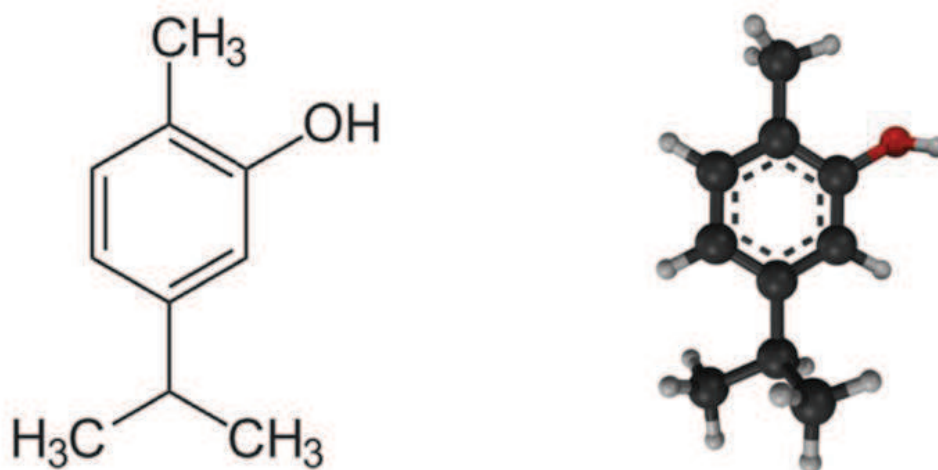


Figura 6: Estructura química Carvacrol

○ *EUGENOL*

El Eugenol es un derivado fenólico conocido comúnmente como esencia de clavo con fórmula ($C_{10}H_{12}O_2$), que también puede extraerse de pimienta, hojas de laurel, canela, alcanfor y otros aceites. Es de consistencia líquida y aceitosa, de color amarillo claro y con aroma característico.

Propiedades biológicas y el uso: Eugenol además de su función antimicrobiana se utiliza en perfumería, aromas, aceites esenciales y en la medicina como un local antiséptico y anestésico. Fue utilizado en la producción de isoeugenol para la fabricación de vainillina, aunque la mayoría de la vainillina se produce ahora a partir de fenol o de lignina.

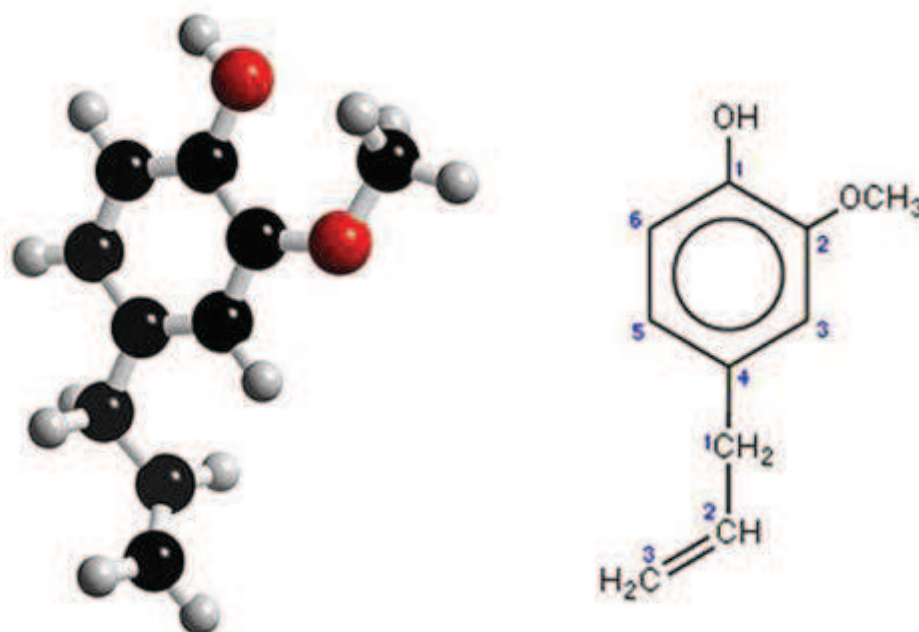


Figura 7: Estructura química Eugenol

2 OBJETIVO Y DISEÑO EXPERIMENTAL

2.1 OBJETIVO

Se propone como objetivo fundamental de este trabajo fin de carrera la optimización de la retención de compuestos activos (Eugenol y Carvacrol) durante la formación de las películas comestibles. Concretamente actuando sobre la etapa de proceso de secado. Así se establecen como objetivos específicos:

- La caracterización de las cinéticas de secado a partir de diferentes condiciones medio ambientales controladas.
- La cuantificación de las pérdidas de los compuestos volátiles antimicrobianos durante el secado de las películas.
- El establecimiento del protocolo adecuado para controlar las pérdidas por volatilidad.

2.2 DISEÑO EXPERIMENTAL

En la presente investigación desarrollamos las siguientes formulaciones para la fabricación de films con el fin de estudiarlas. Estudiaremos la pérdida de compuestos activos (Eugenol y Carvacrol) por volatilidad o la retención del compuesto activo en el film durante su fabricación en diferentes condiciones medio ambientales, en las que durante el casting extraeremos 5 muestras a las que analizaremos por triplicado su concentración de compuesto activo.

Por lo tanto, el diseño experimental del trabajo de investigación quedó establecido de la siguiente manera.

Tabla 2: Condiciones de secado a las que se han sometido las muestras en el experimento y tiempos de extracción de las muestras (5 tiempos de extracción por cada experimento)

COMPUESTO ACTIVO	HUMEDAD RELATIVA (%)	TEMPERATURA (°C)
EUGENOL	30	40
		50
		60
		80
CARVACROL	30	40
		50
		60
		80

Cada experimento corresponde a una condición ambiental de T° y HR y compuesto activo. Durante cada uno de estos experimentos extraeremos muestras en 5 tiempos repartidos en el casting del film, tal y como vemos en la tabla que exponemos a continuación.

Tabla 3: Tiempos de extracción de las 5 muestras fijados para condición de temperatura.

TEMPERATURA (°c) ->	40	50	60	80
TIEMPO EXTRACCIÓN DE CADA MUESTRA (min)	0	0	0	0
	30	20	20	15
	60	40	40	30
	90	60	60	45
	115	80	80	60
	140	100	100	75

Tras extraer las muestras las analizaremos por triplicado y determinaremos su concentración final de c.a. fijado o perdido al final del casting en comparación con la concentración inicial (2%de c.a.)

Para poder llevar a cabo este diseño experimental fue necesario realizar una serie de experimentos preliminares:

- **Determinación de la concentración en el espectrofotómetro:** Se realizó una primera solución formadora de films y posteriormente se midió para saber en qué rango de diluciones deberemos movernos para que la muestra no esté demasiado saturada y por tanto nos dé un falso valor en el punto deseado del espectro.
- **Determinación de rectas patrón y de las concentraciones de las diluciones en la recta patrón:** Utilizando un espectrofotómetro y soluciones realizadas con concentraciones conocidas obtuvimos la recta patrón para cada uno de los 2 compuestos activos a analizar y contabilizar (Eugenol y Carvacrol) trabajando en el mismo intervalo de longitud de onda que posteriormente trabajaremos. Una vez que conocemos el rango de absorbancia en el que nos deberemos mover realizaremos una recta patrón donde los máximos y mínimos de las diluciones seriadas estén un poco por encima y por debajo de las ABS esperadas en las muestras.

- **Limpieza de la cámara de secado:** Antes de usar la cámara de secado para secar los films en las diferentes condiciones la dejaremos 24h en funcionamiento continuo con un vaso de precipitados con agua destilada en su interior para asegurarnos la eliminación total de compuestos que puede haber en la cámara y que pudieran pasar a nuestros film. Entre las pruebas realizadas con un compuesto activo y otro realizamos el mismo proceso para eliminar restos de compuestos usado en la cámara y evitar de este modo que se mezcle con las muestras de nuevos films con el otro compuesto activo.

3 MATERIAL Y MÉTODO

3.1 MATERIALES

- **Para la realización del film**
 - Agua destilada grado analítico.
 - Glycerol: Panreac química S.S. (Barcelona, España).
 - Proteína aislada del suero lácteo (WPI).
 - Eugenol $\geq 98\%$ Sigma Aldrich Co. (Alemania).
 - Carvacrol $\geq 98\%$ Sigma Aldrich Co. (Alemania).
 - Pipetas Pasteur.
 - Pipetas automáticas.
 - Báscula.
 - Agitador magnético y mosca.
 - Baño termostático.
 - Placas Petri de vidrio.
 - Vasos de precipitado
 - Equipo de ultrasonidos.
 - Cámara de secado.

- **Para la extracción y preparación de muestra:**
 - Báscula.
 - Pipetas Pasteur
 - Pipetas automáticas.
 - Tubos de plástico (15ml).
 - Etanol grado alimenticio de 96°.
 - Agitador vertical rotatorio.

- **Para el análisis en espectrofotómetro**

- Espectrofotómetro.
- Cubeta de cuarzo.
- Etanol grado alimenticio de 96°.

- **Para la medida del % de humedad**

- Sales de Silica Gel.
- Desecador.
- Vidrio reloj.
- Balanza de precisión.
- Estufa a 105°C.

3.1.1 COMPONENTES BASE

Empleamos proteína aislada del suero lácteo (WPI) suministrada por Domisco.

3.1.2 ADITIVOS

Utilizaremos los siguientes aditivos en nuestra formulación del film:

- Utilizaremos Glycerol ($C_3H_8O_3$) como plastificante suministrado por Panreac Química S.A. (España). Estas son sus propiedades:
- Aceites: Aceite esencial del Orégano (compuesto activo; Carvacrol) y del Clavo (compuesto activo; Eugenol)



Figura 8: Botes de compuesto activo Eugenol y Carvacrol utilizados durante el experimento.

3.1.3 PRODUCTOS ADICIONALES

- Todas las disoluciones se realizan con agua destilada como solvente en el caso de los film y Etanol a 96° y grado alimentario como solvente en las muestras de film tomadas.

3.2 MÉTODO DE FABRICACIÓN DE FILMS WPI DE EUGENOL Y CARVACROL

El procedimiento será el mismo en ambos casos a la hora de elaborar los films. Para la elaboración de estas películas comestibles de proteína de suero lácteo aislado se ha seguido el procedimiento desarrollado por Mc Hugh et al. (1994)

La solución formadora de películas que elaboraremos está compuesta principalmente por una solución acuosa con un 5% p:p de glicerol como plastificante, un 10% p:p de proteína WPI y un 2% p:p del compuesto activo correspondiente en cada caso, que será eugenol o carvacrol.

Los pasos a seguir para la fabricación de estas soluciones formadoras de películas son los siguientes:

- En primer lugar pesaremos en un vaso de precipitados (con un imán agitador en su interior) 5gr de Glicerol ($C_3H_8O_3$), luego 10gr de proteína WPI y finalmente 83gr de agua destilada.

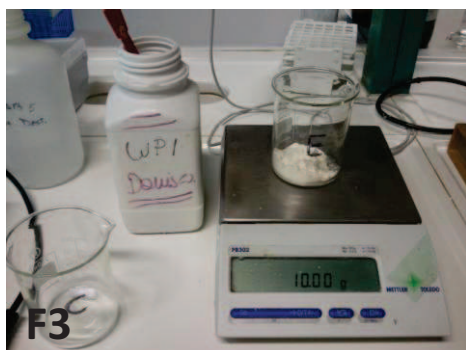


Figura 9: Primeros pasos a realizar en la preparación de la muestra; F1-Vaso con imán agitador utilizados en el experimento. F2-Mismo vaso de la fotografía 1 con el glicerol añadido (5gr). F3-Mismo vaso de la fotografía 2 con 10gr de proteína aislada del suero lácteo. F4-Mismo vaso de la fotografía 3 con 83gr de agua destilada añadidos.

- A continuación colocamos en vaso en una placa agitadora magnética para someterlo a una agitación magnética hasta la completa solubilización de la proteína y resto de compuestos en el agua.



Figura 10: Solución formadora de films antes del agitador magnético (izq.) y después del agitador magnético (der.)

- Una vez disuelta la proteína y terminada la agitación magnética retiraremos el imán de la solución, lo cubriremos con papel de aluminio y lo introduciremos en un baño termostático de agua a 90°C y con una agitación de 33rpp durante 30min con el fin de que la proteína se desnaturalice de tal forma que se formen los enlaces de sulfuroso necesarios para la formación del film.



Figura 11: Baño termostático a 90°C con o sin agitación a 33rpm

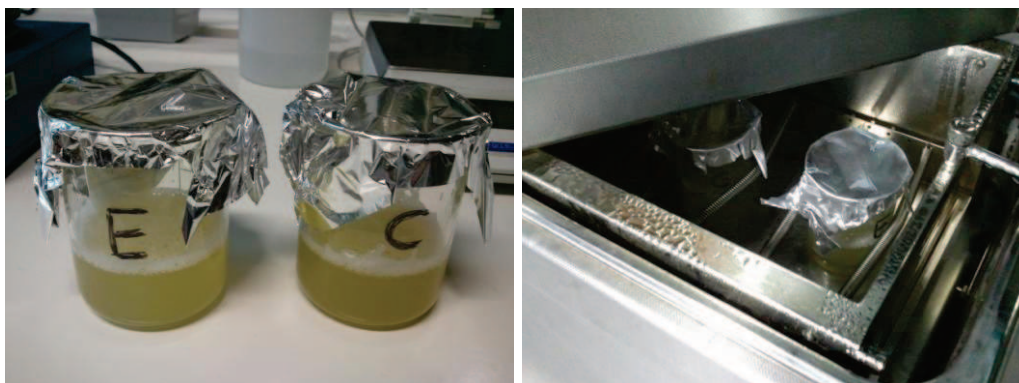


Figura 12: A la izquierda, muestras tapadas para introducirlas en el baño termostático a 90°C y a la derecha, muestras en agitación (a 33rpm) en el mismo baño termostático.

- Pasados estos 30min ya se habrá desnaturalizado la proteína y procederemos a retirar el vaso del baño termostático y lo dejaremos enfriar a temperatura ambiente antes de añadir el compuesto activo (c.a.) correspondiente, Eugenol o Carvacrol, ya que estos son muy volátiles a altas temperaturas y perderíamos compuesto activo en el film obteniendo una concentración real menor a la esperada. Una vez enfriada la solución añadiremos 2gr de compuesto activo.



Figura 13: Muestras enfriadas tras el baño termostático durante 30min junto a las botellas con los aceites esenciales correspondientes a cada muestra (Carvacrol a la izq. y Eugenol a la der.)

- Debido a que el agua y el aceite son no miscibles realizaremos la homogenización mediante ultrasonidos en un equipo Hielscher UP400S a máxima amplitud y con un ciclo continuo durante 5min siguiendo el método de Otín Acín, 2011. El uso de ultrasonidos sobre la solución

produce un incremento significativo de la temperatura de la misma por lo que a la hora de usarlo colocaremos el vaso de precipitados sobre una bandeja con hielo triturado para compensar el aumento de temperatura y evitar que se caliente en exceso y así evitar pérdidas de c.a. por volatilidad.

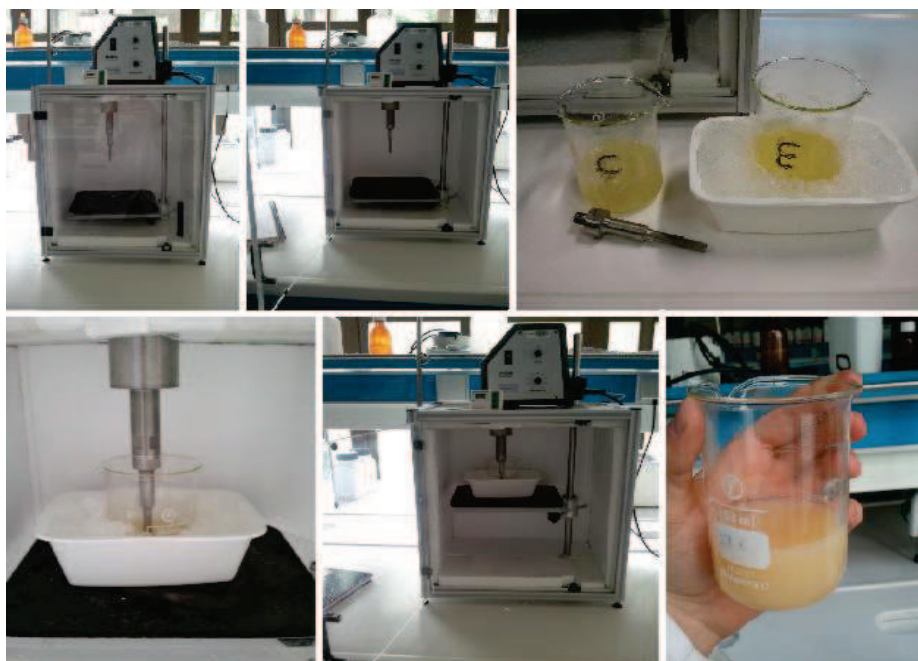


Figura 14: Collage de fotos. Equipo de ultrasonido y pasos a tomar para su uso. Ultima foto resultado final de la muestra tras 5min en el ultrasonido.

- Una vez homogeneizada la solución formadora de películas la tendremos lista para dispensarla en las placas Petri de vidrio de 14cm de diámetro de tal modo que obtengamos al final un film de aproximadamente 160 micrómetros. Las placas con la solución se colocaran sobre una superficie, una placa nivelada para que los films tengan un grosor homogéneo, dentro de la concavidad de las placas.

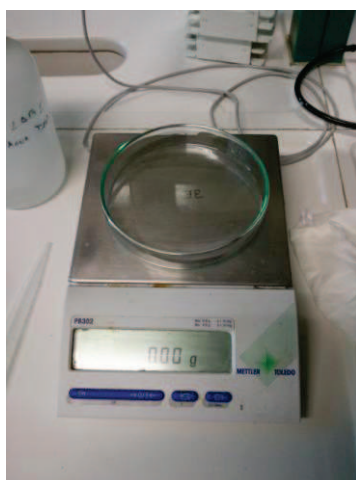


Figura 15: Preparación placas muestra. A la izquierda placa de vidrio de Petri colocada en la balanza y tarada y a la izquierda misma placa con 14gr de solución formadora de film.

- El secado lo haremos en diferentes condiciones:
 - Temperatura ambiente: (24°C aproximadamente)
 - Cámara de secado:
 - 40°C / 30%HR
 - 50°C / 30%HR
 - 60°C / 30%HR
 - 80°C / 30%HR



Figura 16: Cámara climática de secado utilizada en el experimento. (Weiss Technik, Alemania)

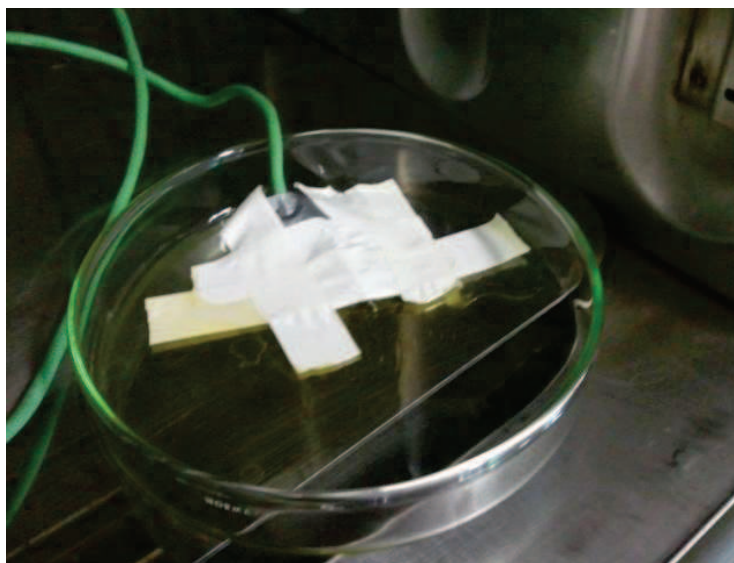


Figura 17: Placa con sonda de temperatura colocada para la medición de la evolución de la temperatura de secado del film.

- Durante el tiempo que tardan en secarse los films tomaremos 5 tiempos de muestreo repartidos en el tiempo total de secado que junto a la toma de muestra al inicio del proceso (tiempo 0min) tendremos 6 puntos de muestra a lo largo de la fabricación del film.



Figura 18: A la izquierda tubos con 15ml de etanol preparados para realizar el muestreo y a la derecha usuario realizando la extracción de 0.5gr de muestra de la solución formadora de film.

3.3 EXTRACCIÓN Y MEDIDA DEL COMPUESTO ACTIVO EN LA MUESTRA

- A la hora de tomar la muestra pesaremos 0.5gr de solución y lo introduciremos en un tubo con 15ml de etanol. A esto lo denominaremos disolución madre (DM). Haremos esto por triplicado para cada tiempo de muestreo. Tras preparar la DM, colocaremos los tubos con la muestra en agitación constante a temperatura ambiente durante 40min para que el etanol extraiga el componente activo presente en la muestra. Una vez pasado 40min consideramos que todo el Eugenol o Carvacrol presente en la muestra se encuentra totalmente extraído en el etanol de forma homogénea así que realizaremos diluciones decimales de todos los tubos, tomando 1ml de la muestra DM y echándolos en un nuevo tubo con 9ml de etanol. A estas muestras las llamaremos dilución decimal a la menos uno (D-1).

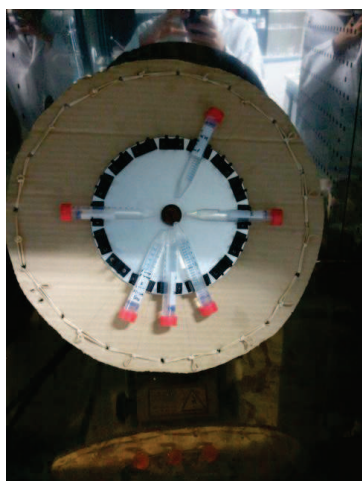


Figura 19: A la derecha, disco rotatorio continuo de tubos (a Tª ambiente) y a la izquierda, tubos muestra rotulados para su identificación.

- En el momento que la muestra pase de ser pipeteable o difícil de tomar 0.5gr de muestra pasaremos a cortar un disco de 17mm de diámetro. Esto ocurrirá en el último o dos últimos muestreos, cuando la solución ya se haya convertido en film y se puede separar fácilmente de la placa de una sola pieza. Para tomar esta muestra disco, utilizaremos un sacabocados con una boca de 17mm y un martillo. El disco que saquemos debe ser de un grosor de 160micras aproximadamente así que buscaremos en el film una zona de ese grosor usando un micrómetro digital de 1micra de precisión (Mitutoyo Corp, Model ID-F125, Japón) y ahí es donde tomaremos la muestra.

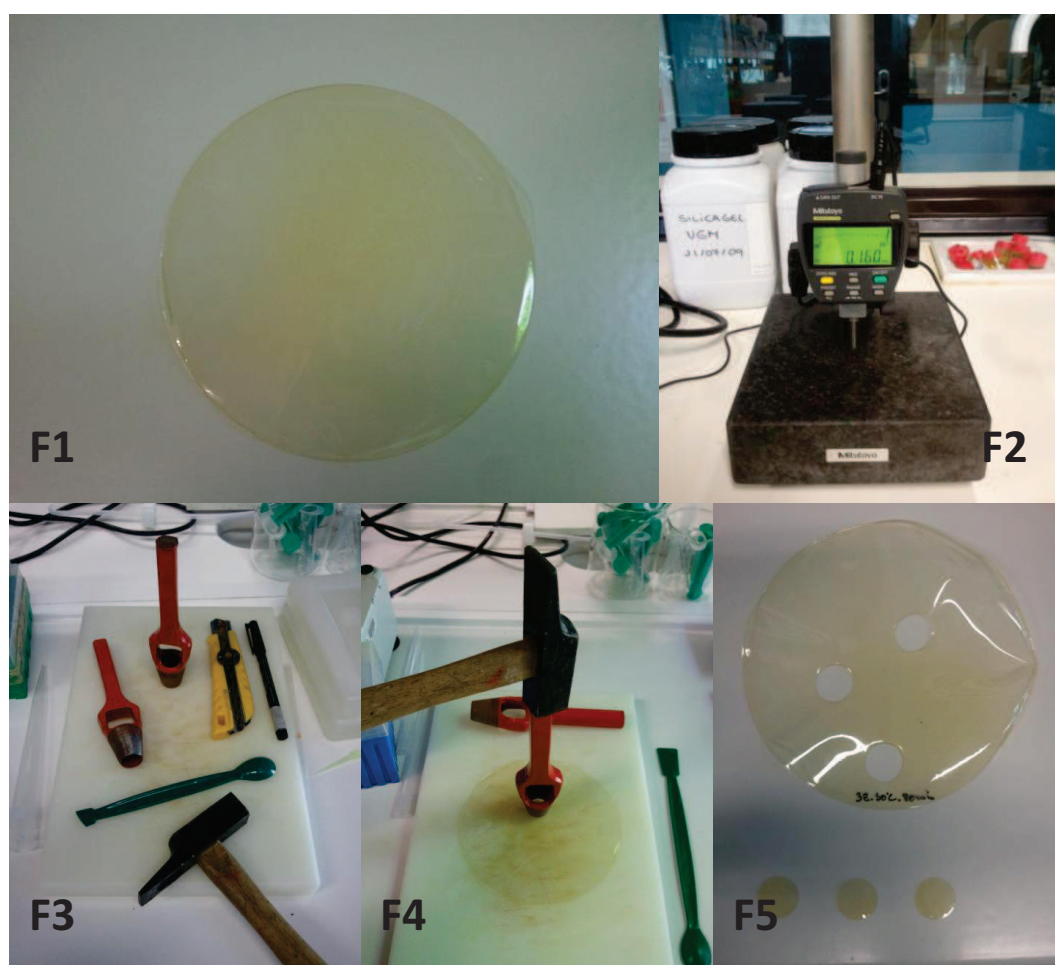


Figura 20: F1; Film activo de WPI terminado. F2; Micrómetro digital utilizado. F3 y F4; Material y método para la toma de muestra de discos de 17mm. F5; Resultados.

- Mediremos la ABS de estas muestras D-1 en un espectrofotómetro (Multi Skan Go) y mediante una cubeta de cuarzo (para poder medir en longitudes de onda de infrarrojo) en un espectro de 200 a 350nm de longitud de onda y usando etanol como blanco. Para cada compuesto

activo (c.a.) nos fijaremos en la ABS en una longitud de onda concreta del espectro.



Figura 21: Fotografía: Espectrofotómetro y cubeta de cuarzo utilizado para la medición de ABS de las muestra.

- Una vez obtenido los valores de ABS de cada muestra nos valemos de las rectas patrón realizadas previamente de cada componente activo para interpolar los valores de ABS y hallar la concentración de la muestra (en ppm) que posteriormente, mediante cálculos realizados, obtendremos la cantidad de c.a. final resultante en el film al finalizar el proceso.

4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 PRUEBAS PRELIMINARES

Fue necesario realizar pruebas preliminares relacionadas con la puesta a punto del proceso de fabricación de films WPI y la cuantificación de la pérdida de compuestos activos (Eugenol y Carvacrol) en soluciones formadora de films o films terminados.

4.1.1 MÉTODO DE DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE EUGENOL Y CARVACROL EN SOLUCIONES Y FILM

Para cuantificar la pérdida del compuesto activo son necesarias unas pruebas previas, tal y como se describió en el apartado de diseño experimental.

4.1.1.1 DETERMINACIÓN DE LA LONGITUD DE ONDA Y DILUCIONES

En las primeras pruebas detectamos que las muestras están muy saturadas y el espectrofotómetro no fue capaz de dar lecturas fiables y reales en el rango más concreto que nos interesa. Esto lo podemos observar en las gráficas resultantes del skan que realizamos entre las longitudes de onda de 200 a 350nm que presentaremos a continuación.

En la figura 22, cerca de la longitud de onda 277-280nm, donde debería verse un pico, se observan valores muy irregulares y el pico no está nada definido. Esto es debido a que la muestra está saturada y el equipo proporciona lecturas reales.

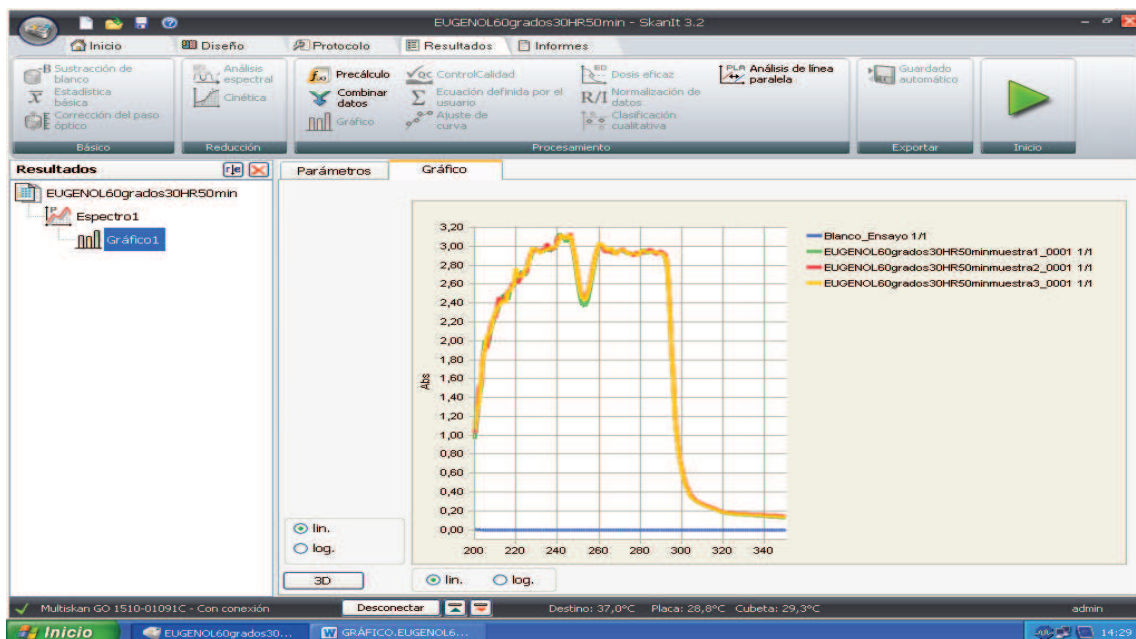


Figura 22: Gráfica de ABS (en un rango de 200 a 350 nm de longitud de onda) de una muestra (0.5gr de solución formadora de films en 15ml de etanol) de Eugenol saturada.

Para solucionar este problema de muestras saturadas se decidió hacer diluciones decimales de todas las muestra con el fin de obtener muestras más diluidas de modo que el espectrofotómetro sea capaz de realizar el barrido de lecturas de forma correcta y obtener datos reales y más exactos. Gracias a estas diluciones decimales realizadas observamos en la gráfica que presentamos a continuación, figura 23, el pico muy bien definido cerca de esos valores de longitud de onda que nos interesa.

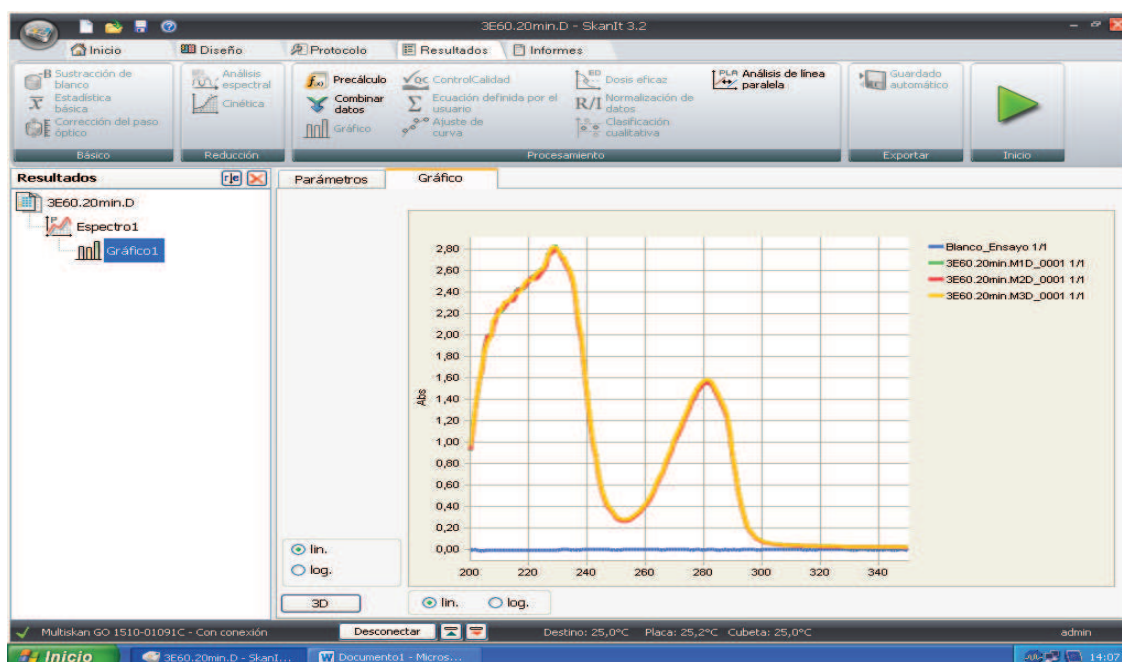


Figura 23: Gráfica de ABS (en un rango de 200 a 350 nm de longitud de onda) de una muestra (dilución decimal de la muestra de 0.5gr de solución formadora de films en 15ml de etanol) de Eugenol no saturada.

En primer lugar realizamos y prepararemos las muestras con ambos c.a. (compuesto activo) para analizar.

Realizamos la solución formadora de films siguiendo el procedimiento descrito en el apartado de Método de fabricación, en la página 47. Extraeremos las muestras correspondientes y las introduciremos en los tubos con etanol. Tras nombrar y enumerar los tubos procederemos a su medición en el espectrofotómetro realizando un barrido de 200 a 350nm de longitud de onda. Observamos los datos y las gráficas obtenidas. Los valores de longitud de onda que interesan en este experimento son 277nm y 280 nm. Así pues prestaremos especial atención a las mediciones realizadas en estos puntos.

4.1.1.2 CONSTRUCCIÓN DE LAS RECTAS PATRÓN

En primer lugar se preparan varios tubos con el compuesto activo a analizar en diferentes concentraciones.

Partimos de una disolución madre (DM) de 20uL de eugenol o carvacrol en 10ml de etanol. A partir de esta DM realizamos varias diluciones decimales y diluciones al 50% etanol-muestra, como podemos observar en la Figura 24 y en la Tabla 4. Todas estas muestras la analizamos en espectrofotómetro a la longitud de onda correspondiente para cada c.a. (compuesto activo) y con las ABS obtenidas construimos una recta patrón.

Posteriormente realizamos toda la fabricación y análisis de los films y de las muestras y tras obtener los resultados de los análisis repetimos la recta o realizamos nuevos puntos o concentraciones de muestras para afinar más en la recta y tener varios puntos en el rango en el que nos moveremos. De esta forma conseguimos una recta patrón más precisa con varios puntos en el intervalo de ABS y PPM que nos moveremos.

Tabla 4: Datos sobre la composición en volumen de las muestras utilizadas para realizar la recta patrón.

TUBO	ML ETANOL	MUESTRA TRASPASADA	ML MUESTRA TRASPASADA	ML TOTAL MUESTRA
D-1	9	DM	1	10
D-1 al 50%	5	D-1	5	10
D-2	9	D-1	1	10
D-2 al 50%	5	D-2	5	10
D-3	9	D-2	1	10
D-3 al 50%	5	D-3	5	10
D-4	9	D-3	1	10

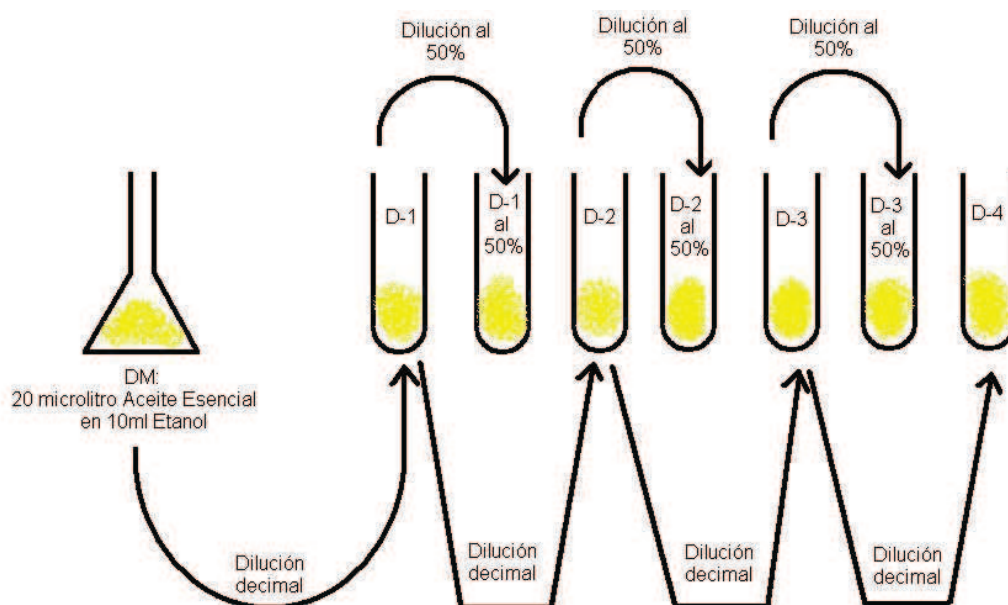


Figura 24: Esquema de las muestras utilizadas para realizar la recta patrón.



Figura 25: A la izquierda, pipetas regulable de hasta 1ml y hasta 15ml utilizadas para realizar las diluciones y a la derecha usuario realizando las diluciones.

Estas rectas de calibrado han de ser lo más precisas posibles y presentar una recta de regresión con un R^2 los más cercano a 1 posible. Tras realizar las rectas se debe observar que el máximo está por encima de la medición máxima que obtengamos y el mínimo por debajo de la medición menor que obtengamos de tal forma que nos aseguremos que todos los datos con los que trabajemos en nuestras pruebas estén dentro de los límites de nuestra recta de calibrado.

Así pues tras realizar la recta de calibrado marcamos la recta de regresión de la recta patrón obtenida y vemos que el valor de R^2 sea lo mas cercano a 1.

A continuación se expone la recta de calibrado de Eugenol (tabla 5 y figura 26).

Tabla 5: Datos de partida para la realización de la recta patrón de Eugenol.

EUGENOL					
	UL EUGENOL	ML EUGENOL	GR EUGENOL	PPM EUGENOL	ABS
DM	20	0,02	0,02132	2132	3,2748
D-1	2	0,002	0,002132	213,2	2,8143
D-1 al 50%	1	0,001	0,001066	106,6	2,6741
D-2	0,2	0,0002	0,0002132	21,32	0,6844
D-2 al 50%	0,1	0,0001	0,0001066	10,66	0,338
D-3	0,02	0,00002	0,00002132	2,132	0,0654
D-3 al 50%	0,01	0,00001	0,00001066	1,066	0,0296
D-4	0,002	0,000002	0,000002132	0,2132	0,0032
EUGENOL: DENSIDAD				1,066	gr/ml
ETANOL / MUESTRA: DENSIDAD $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH} / \text{C}_2\text{H}_6\text{O}$				0,8	gr/ml

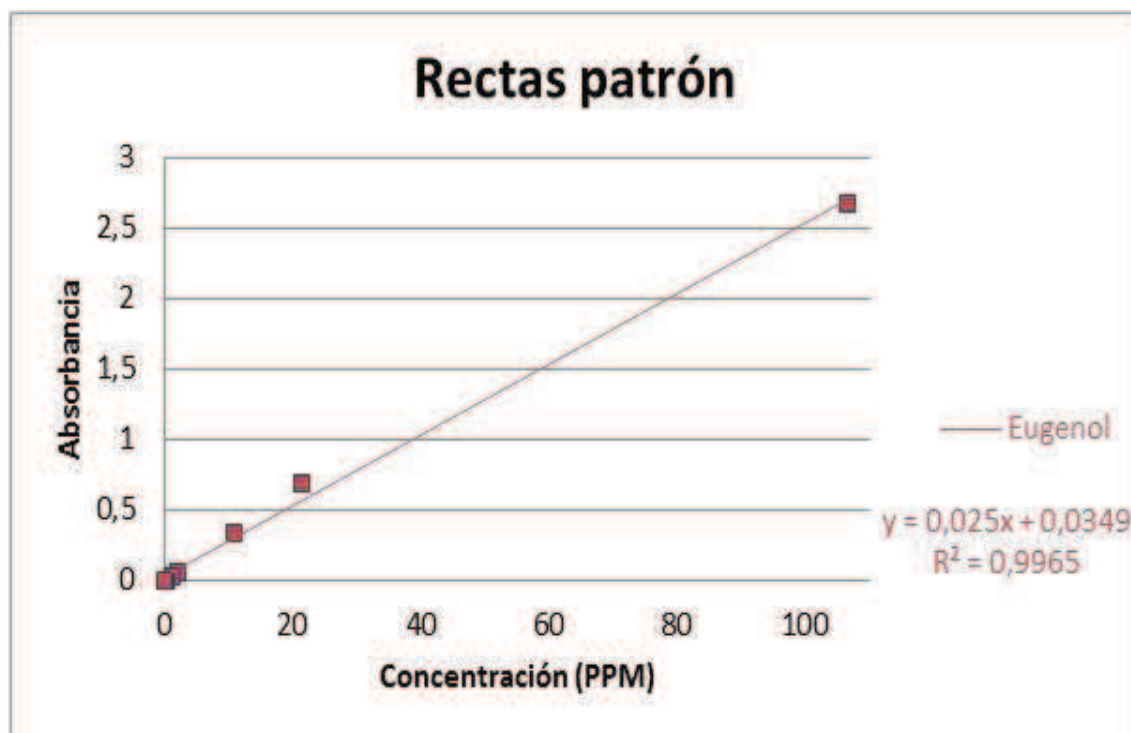


Figura 26: Recta patrón realizada para Eugenol.

A continuación se expone la recta de calibrado de Carvacrol (tabla 6 y figura 27).

Tabla 6: Datos de partida para la realización de la recta patrón de Carvacrol.

CARVACROL					
	UL CARVAC ROL	ML CARVAC ROL	GR CARVACROL	PPM CARVAC ROL	ABS
DM	20	0,02	0,01952	1952	2,7187
D-1	2	0,002	0,001952	195,2	2,5802
D-1 al 50%	1	0,001	0,000976	97,6	1,9059
D-2	0,2	0,0002	0,0001952	19,52	0,4059
D-2 al 50%	0,1	0,0001	0,0000976	9,76	0,2028
D-3	0,02	0,00002	0,00001952	1,952	0,0428
D-3 al 50%	0,01	0,00001	0,00000976	0,976	0,0205
D-4	0,002	0,000002	0,000001952	0,1952	0,0039
CARVACROL: DENSIDAD			0,976	gr/ml	
ETANOL / MUESTRA: DENSIDAD CH ₃ CH ₂ OH / C ₂ H ₆ O				gr/ml	

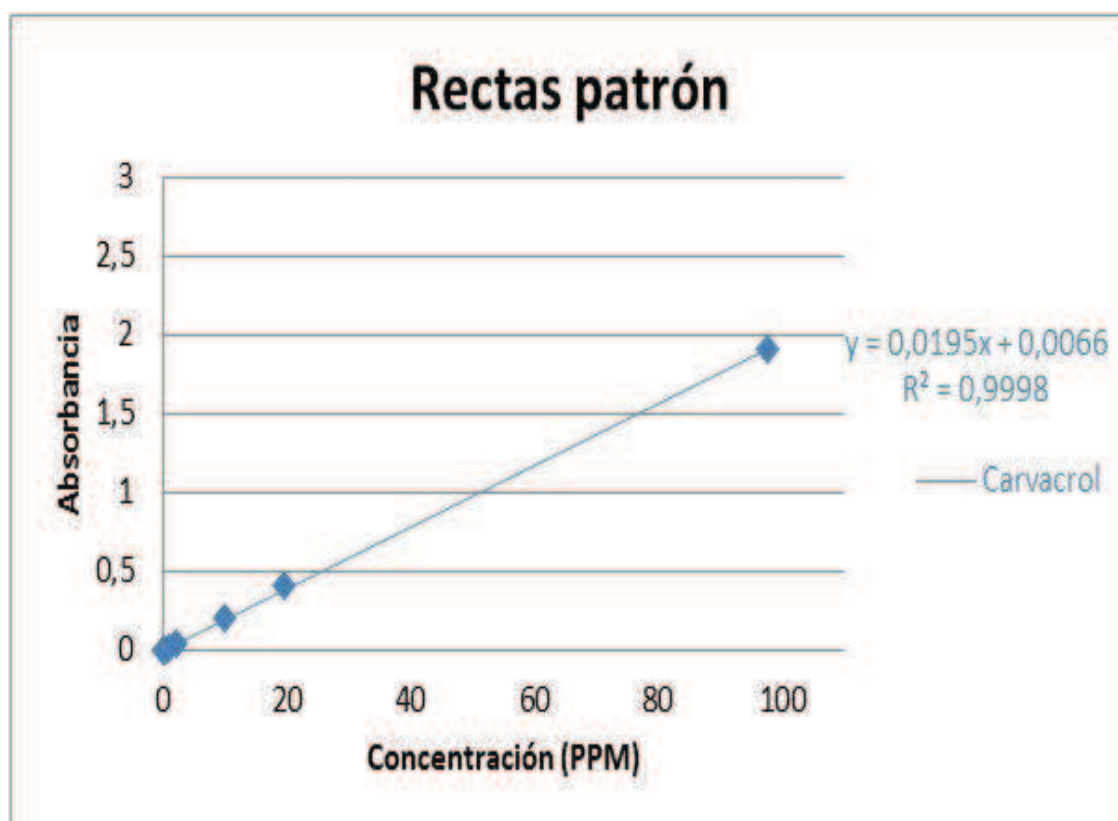


Figura 27: Recta patrón realizada para Carvacrol.

La recta patrón obtenida para cada compuesto activo (c.a.) a pesar de no ser exactamente iguales, como observamos en la figura 28, son muy similares y probablemente esto sea debido al tamaño y forma de cada molécula de c.a, pues es diferente la molécula de Eugenol respecto a la de Carvacrol.

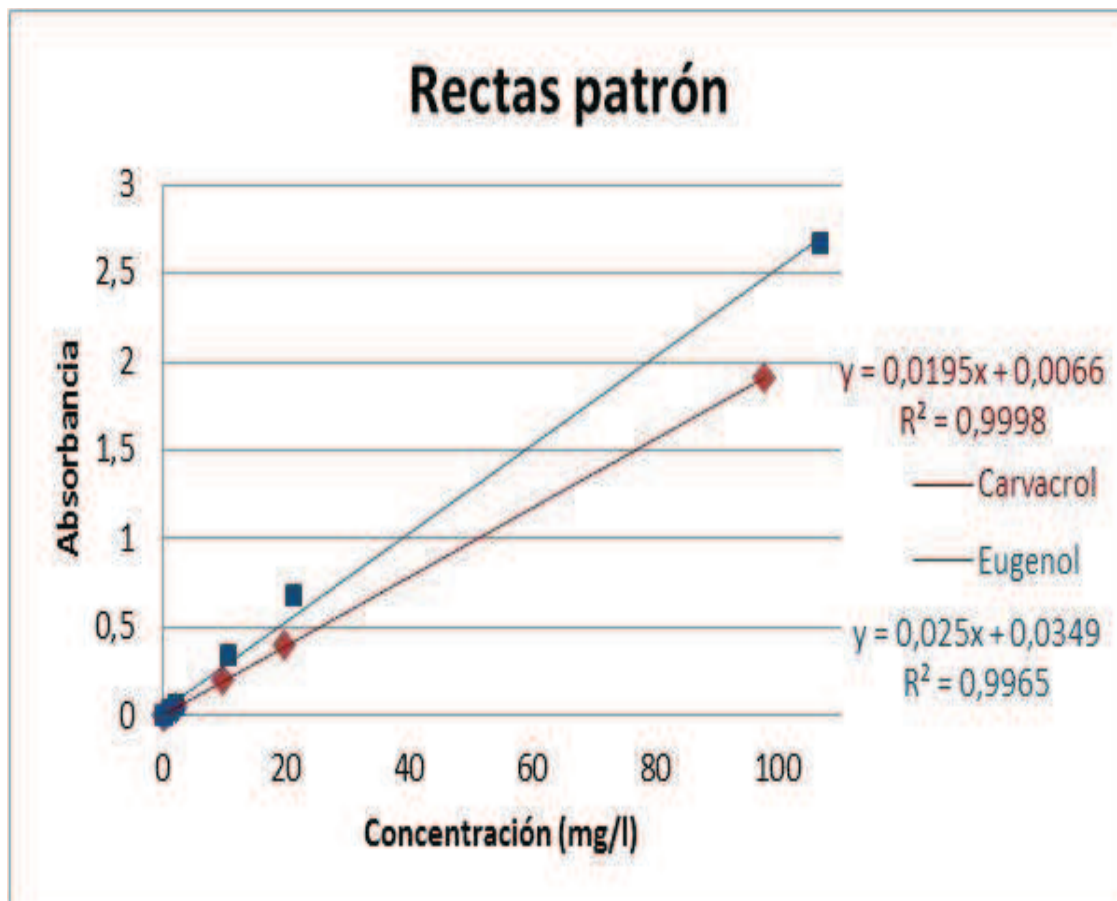


Figura 28: Recta patrón realizada para Carvacrol y Eugenol.

Por ello observamos al expresar ambas rectas patrón en una misma gráfica la diferencia de pendiente. Y es que mismas cantidades y/o concentraciones de c.a. presentan diferentes absorbancias y esto es debido a lo comentado anteriormente, al tamaño de las moléculas.

Observamos también, que las dos rectas de regresión obtenidas tienen un R^2 de 0,99 el cual es un valor muy bueno.

Para la recta de calibrado de Carvacrol, utilizaremos las mismas diluciones y concentraciones utilizadas para Eugenol. No obstante la recta que obtenemos aun pareciendo igual a la de Eugenol es ligeramente diferente y conseguimos poder manejarnos con una sola gráfica y una única recta de regresión. Eliminando los dos-tres valores mayores conseguimos que la recta siga abarcando todas las mediciones realizadas.

4.2 EVOLUCIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE COMPUESTO ACTIVO CALCULADO

En la siguiente gráfica (figura 29 y 30) que presentaremos a continuación observamos la influencia del aumento de temperatura durante la fabricación de los films WPI en relación con la cantidad o concentración final del compuesto activo. Como podemos apreciar en la gráfica, el contenido final de Eugenol comienza disminuyendo y al final observamos un aumento de esta concentración, seguramente debido a una concentración del contenido de compuesto activo en la solución o film de la placa.

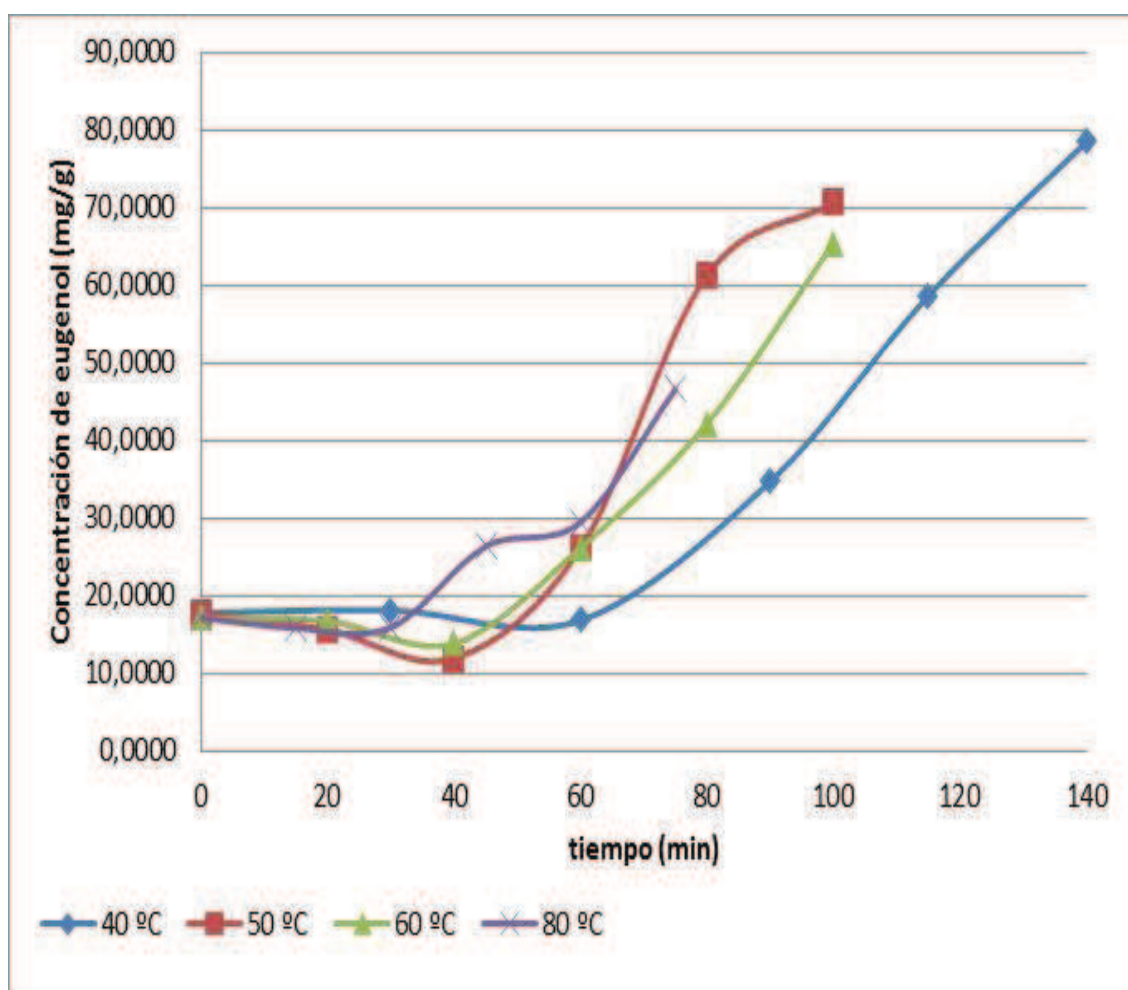


Figura 29: Evolución de la concentración (mg c.a/g film) de Eugenol durante el secado de la solución formadora de films en la cámara climática para condición de temperatura de fabricación (40°C, 50°C, 60°C y 80°C.)

En el siguiente gráfico de columnas, figura 30, observamos la cantidad de compuesto activo medido (en mg) para cada experimento y en cada número de extracción realizada.

Los valores de partida de la extracción N°0, corresponden a la extracción realizada a los 0min del experimento. En este tiempo 0 observamos que el contenido de c.a. es similar para los 4 castings realizados. El valor teórico real en esta extracción número 0 debería ser la correspondiente a la concentración inicial de la solución (2%), que corresponde a 280mg de Eugenol. Asimismo estos primeros valores reales no corresponden con los esperados aunque si son valores cercanos, en torno a los 240-250mg de c.a.

Sabremos con esto, que el Eugenol comienza a perderse desde el inicio de la fabricación de la solución formadora de films, pues de no ser así, en la primera medición realizada en el minuto 0, el valor de contenido de c.a. medido correspondería con el esperado.

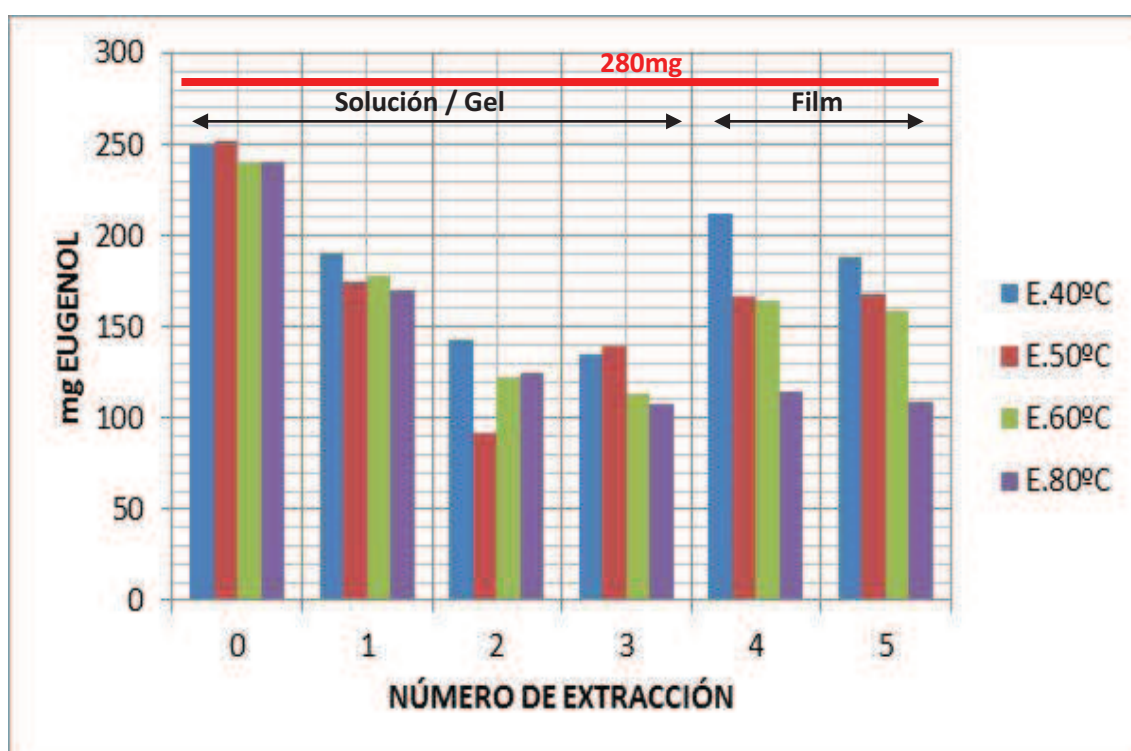


Figura 30: Evolución de la cantidad (mg) de Eugenol durante el secado de la solución formadora de films en la cámara climática para condición de temperatura de fabricación (40°C, 50°C, 60°C y 80°C.) En ella expresamos el momento en el que pasamos de extraer muestras en estado líquido o gel a extraer muestras en estado sólido (film). La franja roja corresponde al valor de la cantidad inicial teórica de Eugenol.

Presentaremos a continuación unas gráficas (figura 31 y 32) en las que observamos la influencia del aumento de temperatura durante la fabricación de los films WPI respecto la cantidad o concentración final del compuesto activo, Carvacrol es este caso. Observamos que concentración final de Carvacrol es

menor a medida que subimos la temperatura de secado de la misma forma que ocurría con las muestras de Eugenol.

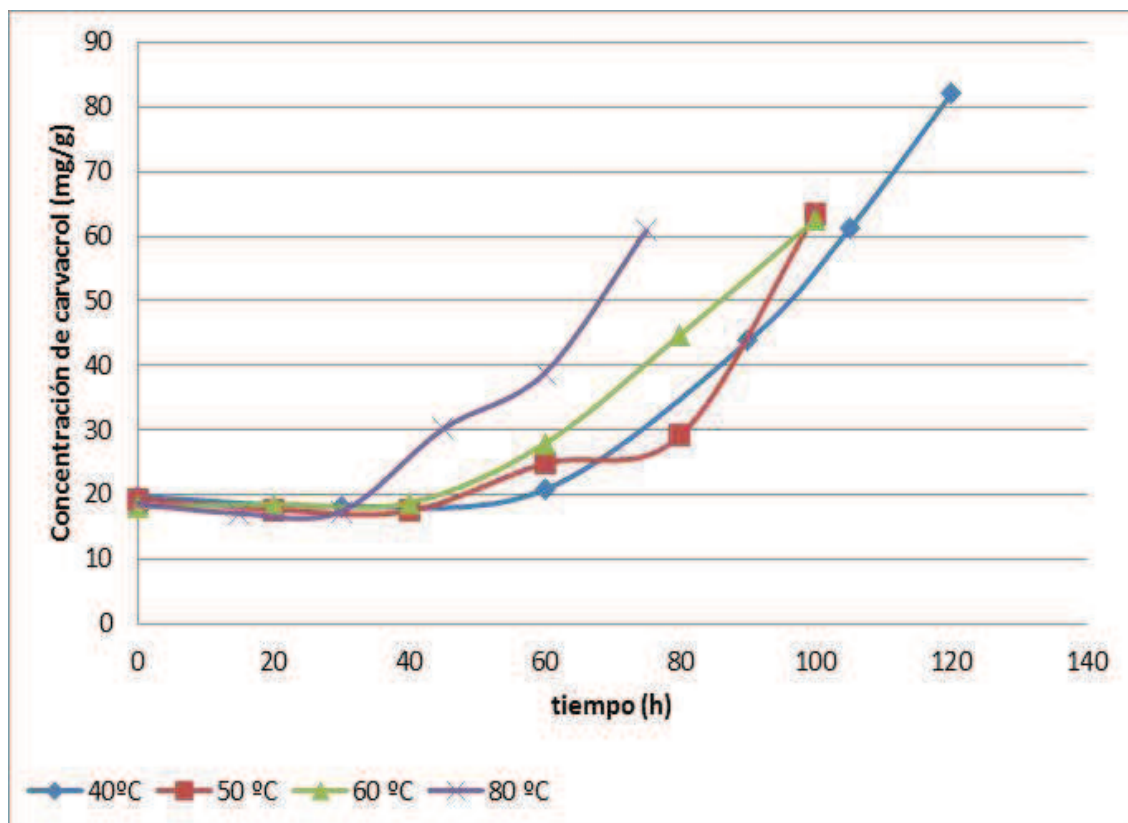


Figura 31: Evolución de la concentración (mg c.a./g film) de Carvacrol durante el secado de la solución formadora de films en la cámara climática para condición de temperatura de fabricación (40°C, 50°C, 60°C y 80°C.)

En el siguiente gráfico de columnas, figura 32, observamos la cantidad de compuesto activo medido (en mg) para cada experimento y en cada número de extracción realizada, de la misma forma que hemos realizado con Eugenol en la figura 30.

El valor inicial obtenido en la extracción realizada en el minuto 0 también debería coincidir con los 280mg de Carvacrol esperados para este tiempo. De la misma forma que ocurre con Eugenol, estos primeros valores calculados están por debajo de los valores esperados, en torno a los 260-280mg.

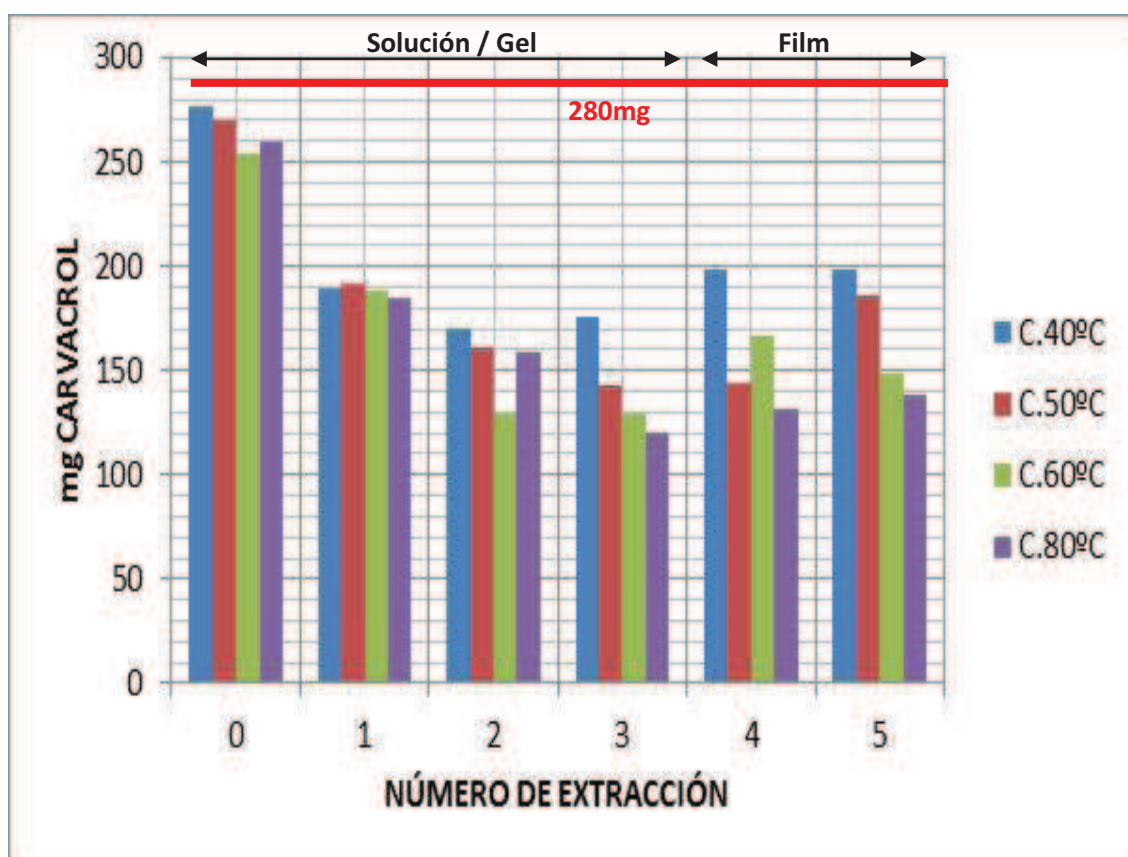


Figura 32: Evolución de la cantidad (mg) de Carvacrol durante el secado de la solución formadora de films en la cámara climática para condición de temperatura de fabricación (40°C, 50°C, 60°C y 80°C.) En ella expresamos el momento en el que pasamos de extraer muestras en estado líquido o gel a extraer muestras en estado sólido (film). La franja roja corresponde al valor de la cantidad inicial teórica de Carvacrol.

Finalmente, vemos que tanto en los casting realizados con Eugenol como en los realizados con Carvacrol, el contenido de c.a. inicial obtenido es menor al esperado, por lo que se deduce que en ambos casos, la pérdida de los compuestos activos empieza a ser visible desde la fabricación de la solución formadora de films.

Presentamos a continuación las siguientes gráficas (figuras de la 33 a la 36 ambas inclusive) en las que como podemos observar como comparamos por cada temperatura de trabajo la evolución del contenido (mg) de los dos diferentes compuestos activos utilizados durante el casting. (Eugenol y Carvacrol)

A cada valor de c.a. calculado y expresado en el diagrama de barras le corresponde un valor de desviación típica, que podemos observar sobre la parte superior de cada columna.

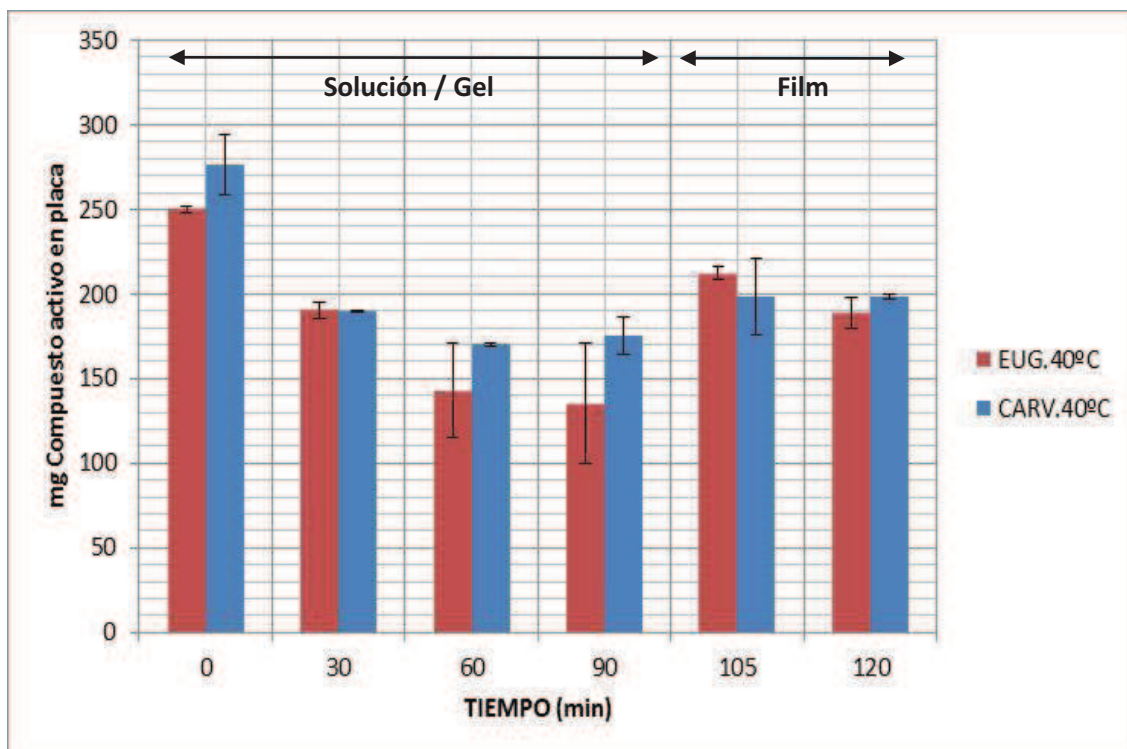


Figura 33: Evolución a lo largos del casting a 40°C del contenido de Eugenol (rojo) y Carvacrol (azul) y sus desviaciones típicas.

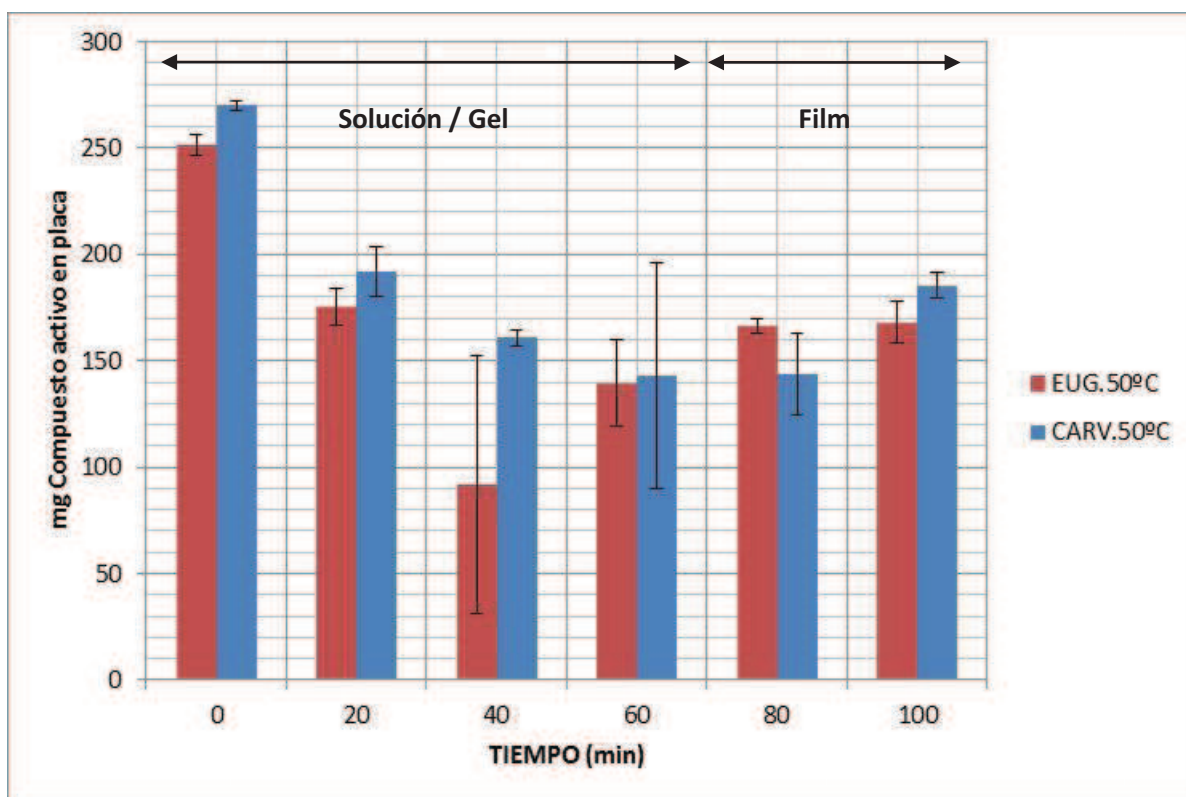


Figura 34: Evolución a lo largos del casting a 50°C del contenido de Eugenol (rojo) y Carvacrol (azul) y sus desviaciones típicas.

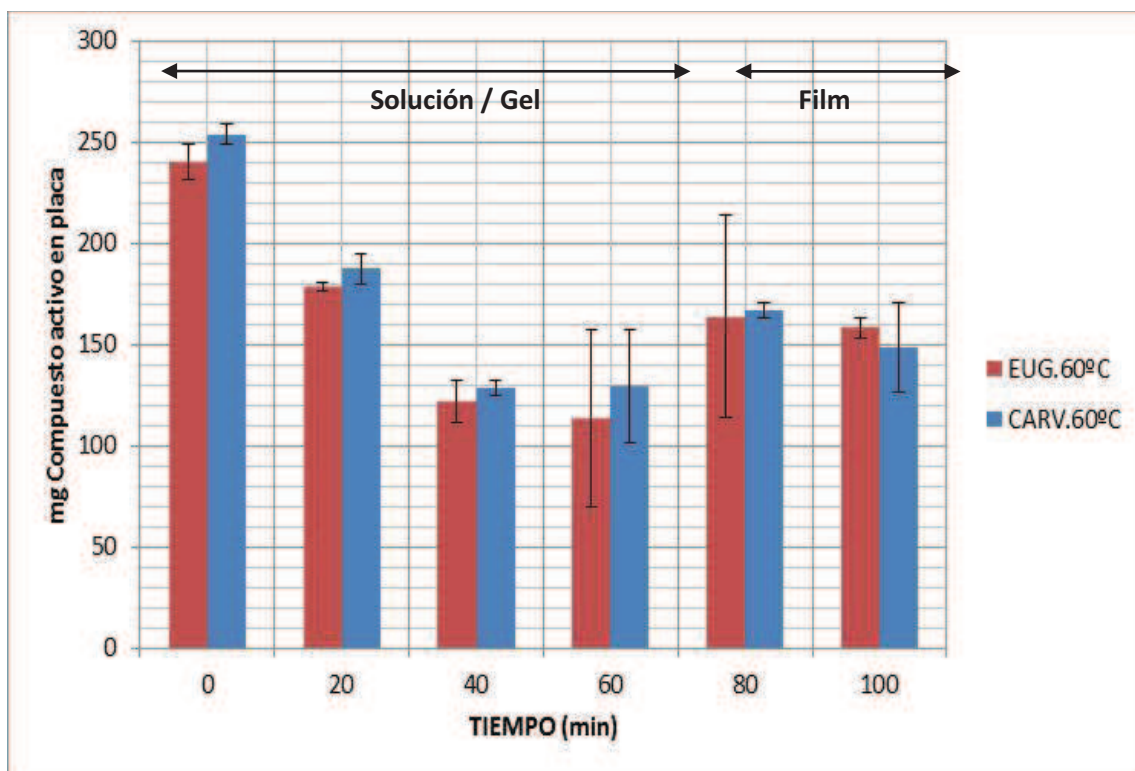


Figura 35: Evolución a lo largos del casting a 60°C del contenido de Eugenol (rojo) y Carvacrol (azul) y sus desviaciones típicas.

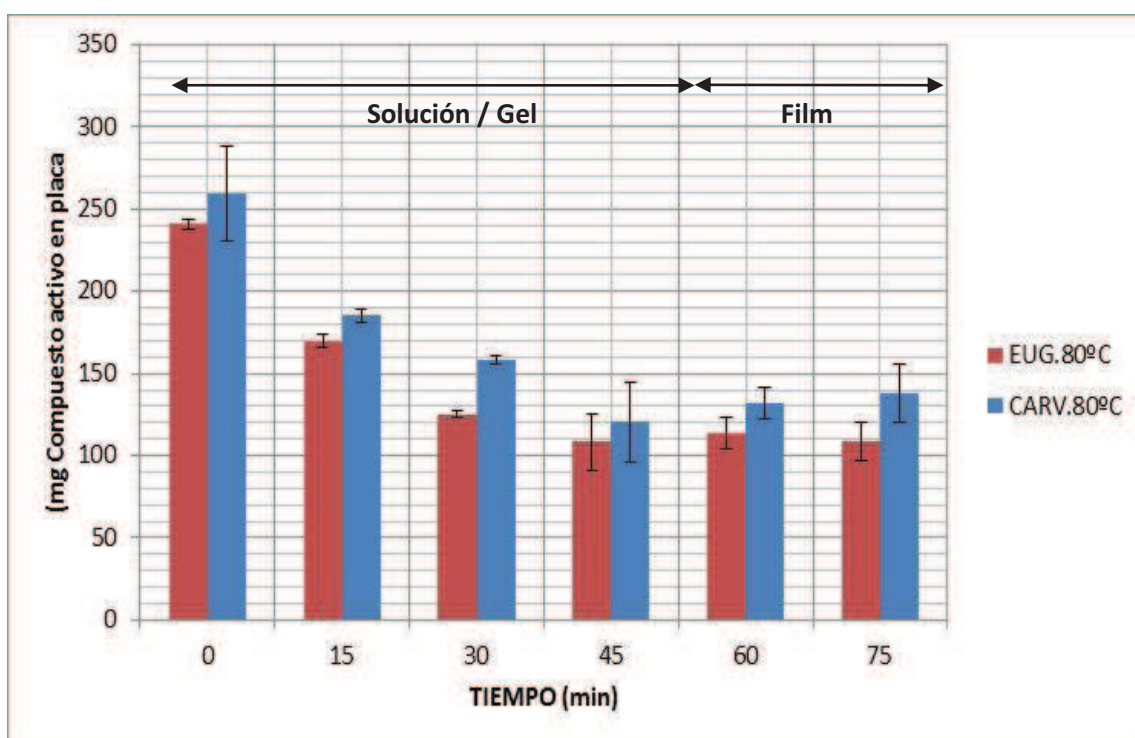


Figura 36: Evolución a lo largos del casting a 80°C del contenido de Eugenol (rojo) y Carvacrol (azul) y sus desviaciones típicas.

Tras analizar estas figuras, de la 33 a la 36, observamos que tanto un compuesto activo como otro tienen comportamientos similares al margen de las

cantidades que veremos mas adelante. Ambos se pierden en mayor cantidad a medida que subimos la temperatura de secado de los films y ambos se secan más rápido a medida que subimos la temperatura de fabricación.

4.3 EFECTO DE LA TEMPERATURA SOBRE LA PÉRDIDA FINAL DEL COMPUESTO ACTIVO EN FILMS WPI

Tras ver la evolución general de la concentración final de compuesto activo en las cinéticas de secado, sabemos que a mayor temperatura de secado la pérdida de Eugenol o Carvacrol es mayor, o lo que es lo mismo, la retención de estos compuestos en los films de WPI es menor.

A continuación observamos la retención de ambos compuestos activos sometidos a las mismas condiciones de fabricación y partiendo de una misma concentración inicial de Eugenol y Carvacrol (2%)

Ambos agentes activos a medida que sube la temperatura de fabricación disminuye gradualmente la concentración final de compuesto activo en el film de WPI.

También observamos en general que la retención final es mínimamente mayor, a igualdad de condiciones, en el caso de Carvacrol que en el caso de Eugenol, siendo este 2º compuesto activo el que se pierde en mayor medida.

A continuación, en la figura 37, exponemos la cantidad de Eugenol y Carvacrol fijada al film al final de casting, expresado en tanto % respecto al contenido inicial, para las diferentes temperaturas de fabricación.

Se observa como al duplicar el tiempo de secado de 40°C a 80°C tanto el tiempo de secado como la cantidad de c.a. fijado al final, se reduce aproximadamente a la mitad, siendo el tiempo de secado de 140min y 75min respectivamente y la cantidad aproximada de c.a. fijado del 70% y 45%.

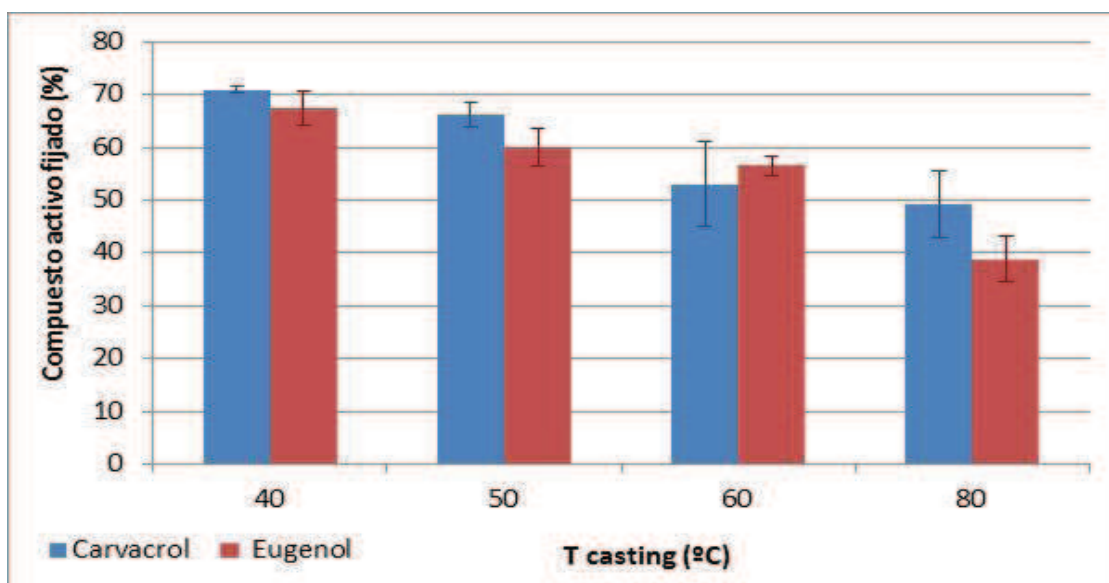


Figura 37: Porcentaje final de compuestos activos (Carvacrol y Eugenol) fijados al film al finalizar del proceso de fabricación respecto al porcentaje inicial de la solución formadora de film para cada condición de temperatura.

En la siguiente gráfica, figura 38, observaremos la cantidad de Eugenol y Carvacrol perdida en el film al final de casting, expresado en tanto % respecto al contenido inicial, para las diferentes temperaturas de fabricación.

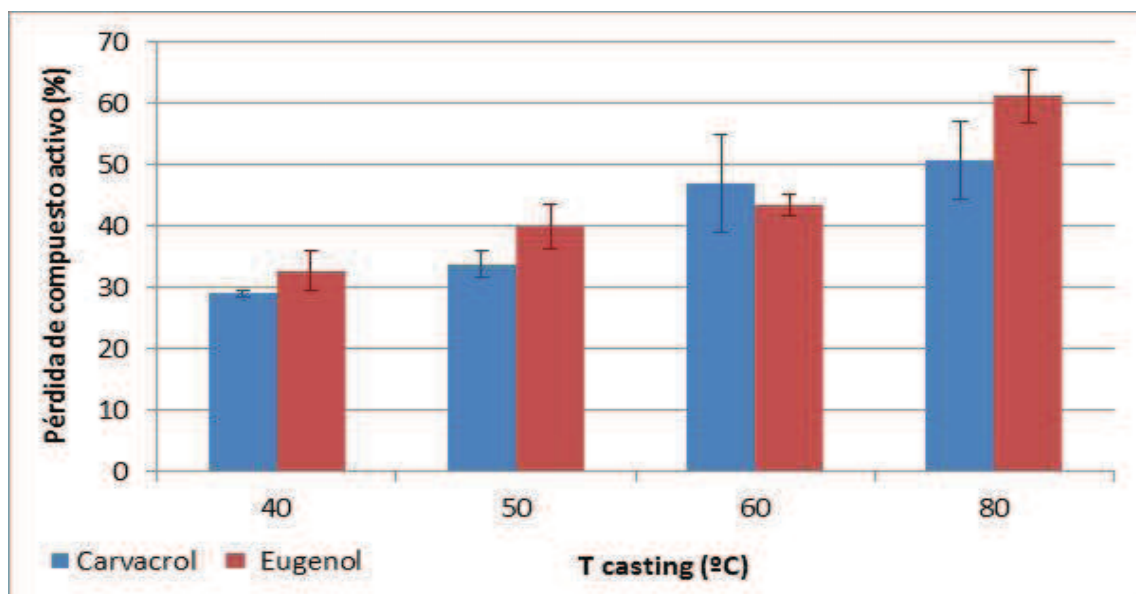


Figura 38: Porcentaje final de compuestos activos (Carvacrol y Eugenol) perdido al film al finalizar el proceso de fabricación respecto al porcentaje inicial de la solución formadora de film para cada condición de temperatura.

5 CONCLUSIONES

La principal conclusión de este trabajo es que hay una pérdida significativa tanto de Carvacrol como de Eugenol en la fabricación de los films de WPI al 2% de compuesto activo, independientemente de la T° de secado.

Se observa que cuando mayor es la temperatura de secado, el contenido final de compuesto activo fijado al film es menor, es decir, que conforme sube la temperatura de secado de los films, mayores son las pérdidas de compuesto activo al finalizar el proceso. A pesar de esta observación general, la diferencia entre realizar el secado a 50°C o a 60°C no fue significativa.

Por otra parte, tal y como se esperó, el tiempo de fabricación se acorta o alarga en función de la temperatura de secado, siendo el tiempo de fabricación más largo en el casting a menor temperatura y el más corto el de mayor temperatura, reduciéndose a la mitad el tiempo de secado al doblar la temperatura de casting (de 40°C a 80°C). Lo mismo ocurre con el contenido final de compuesto activo en film, pues al duplicar la temperatura de secado se reduce casi a la mitad la cantidad de compuesto activo retenido.

Partiendo de una misma concentración inicial de Eugenol y Carvacrol y sometidos a mismas condiciones de fabricación apreciamos en general una mayor pérdida en el caso de los films con Eugenol. Esto es así en todas las temperaturas excepto a 60°C en la que las retenciones eran muy parecidas.

Respecto al contenido inicial de compuesto activo, observamos como todos los valores obtenidos a tiempo 0 del experimento son menores al valor esperado de compuesto activo en el minuto 0. Por lo que se concluye que la pérdida de Eugenol y Carvacrol comienza desde el momento de fabricación de la solución y no durante el casting como se esperaba.

Como hemos visto en el apartado anterior, en las figuras 29 y 31, la cantidad de compuesto activo aumenta al final del proceso, coincidiendo con las muestras ya catalogadas como film. Esto evidentemente no puede ser se debe a algún error realizado o bien durante la fabricación de films o durante el análisis de los mismos.

Las posibles fuentes de error fueron:

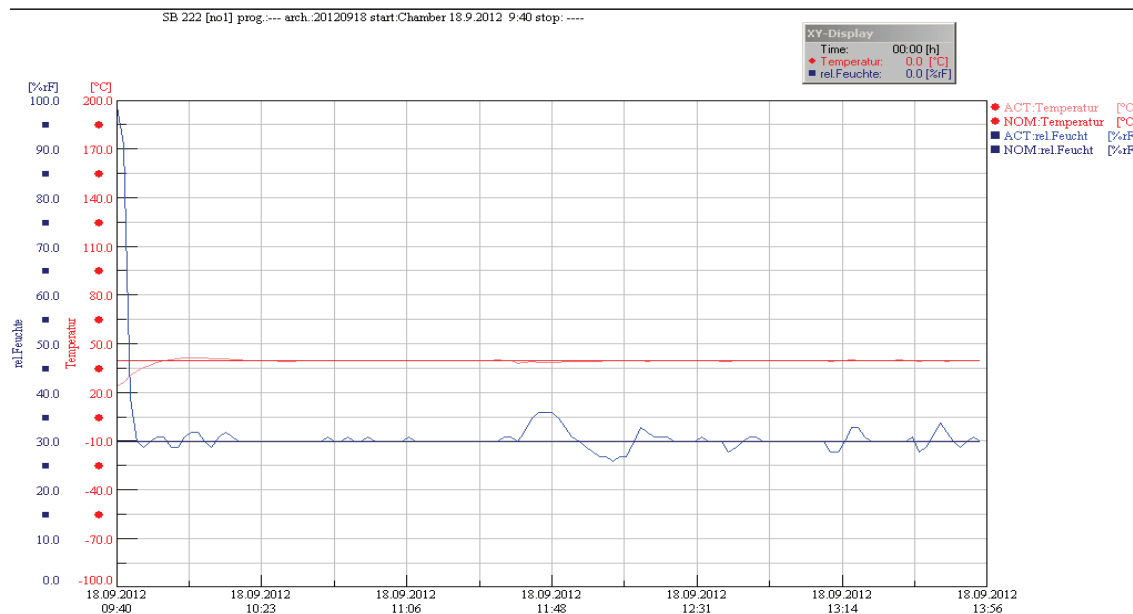
- El diferente protocolo utilizado para la toma de muestras según el estado de la solución formadora de films (sólidas o líquidas)
- El uso de Glicerol como plastificante en la formulación debido a la volatilidad de este componente.

6 ANEXOS

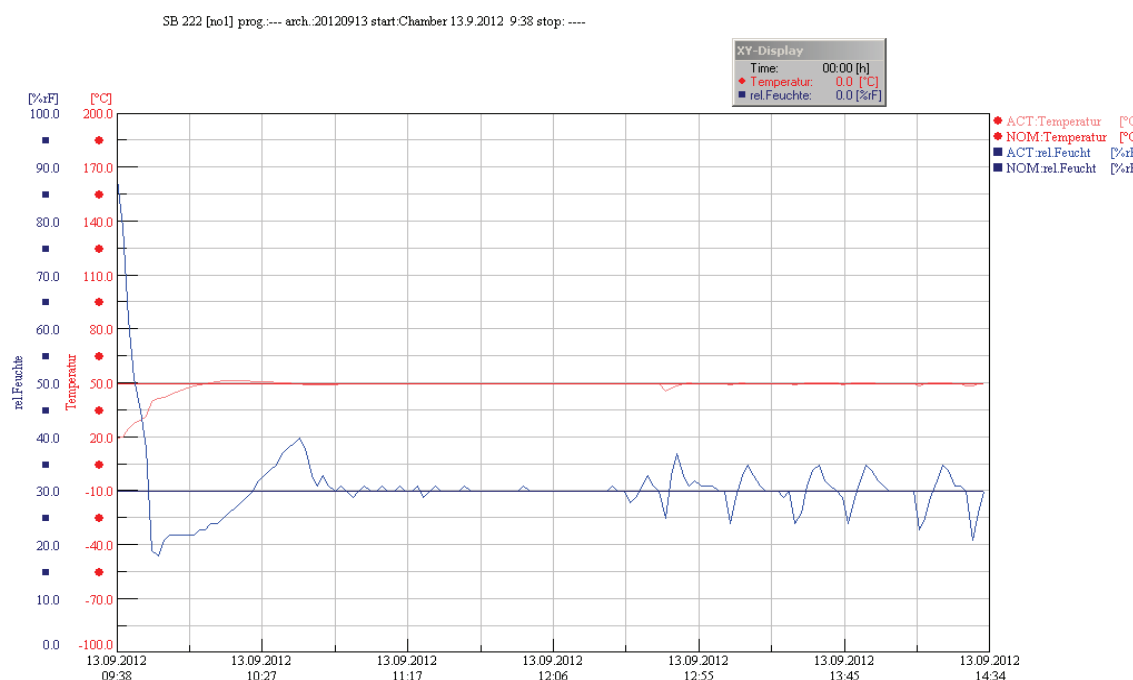
6.1 ESTABILIZACIÓN DE LA CÁMARA CLIMÁTICA Y EVOLUCIÓN DE TEMPERATURA Y HR DURANTE EL CASTING

EUGENOL

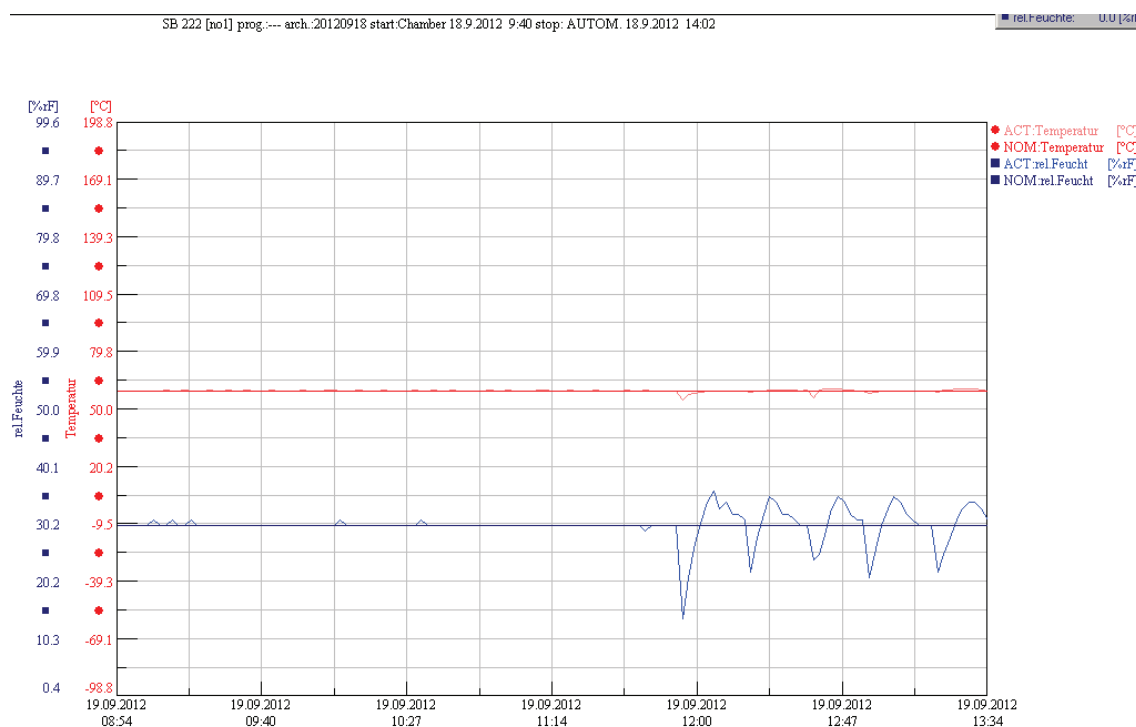
40°C-30% HR



50°C-30%HR



60°C-30%HR



80°C-30%HR

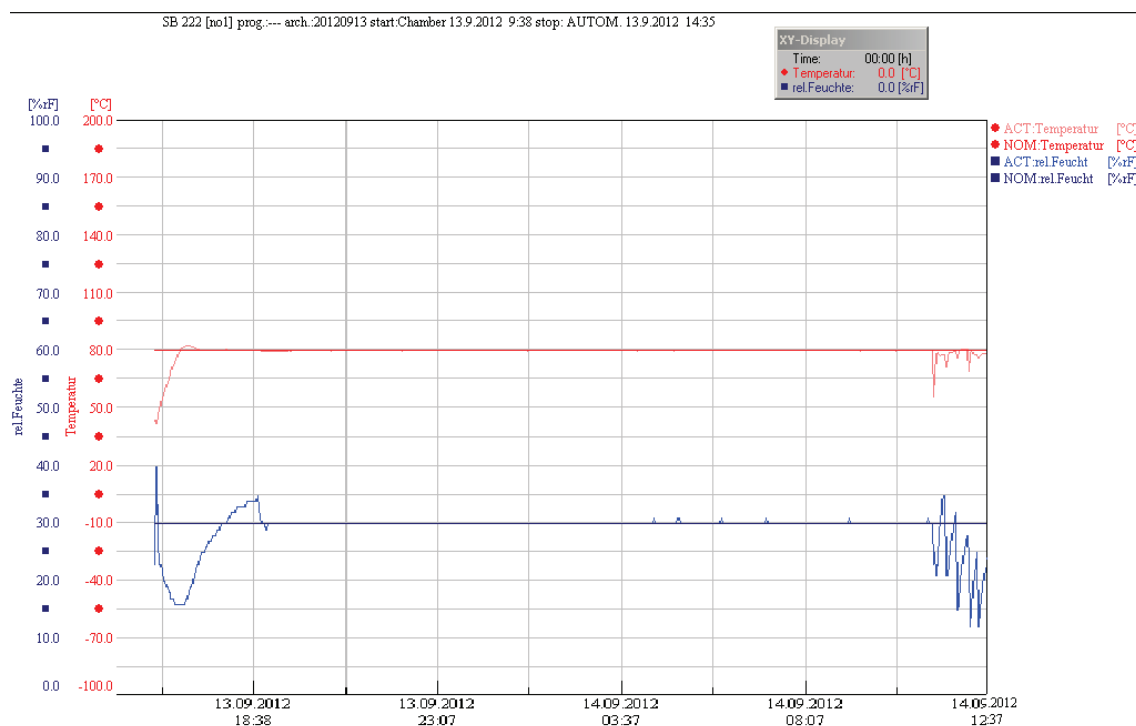
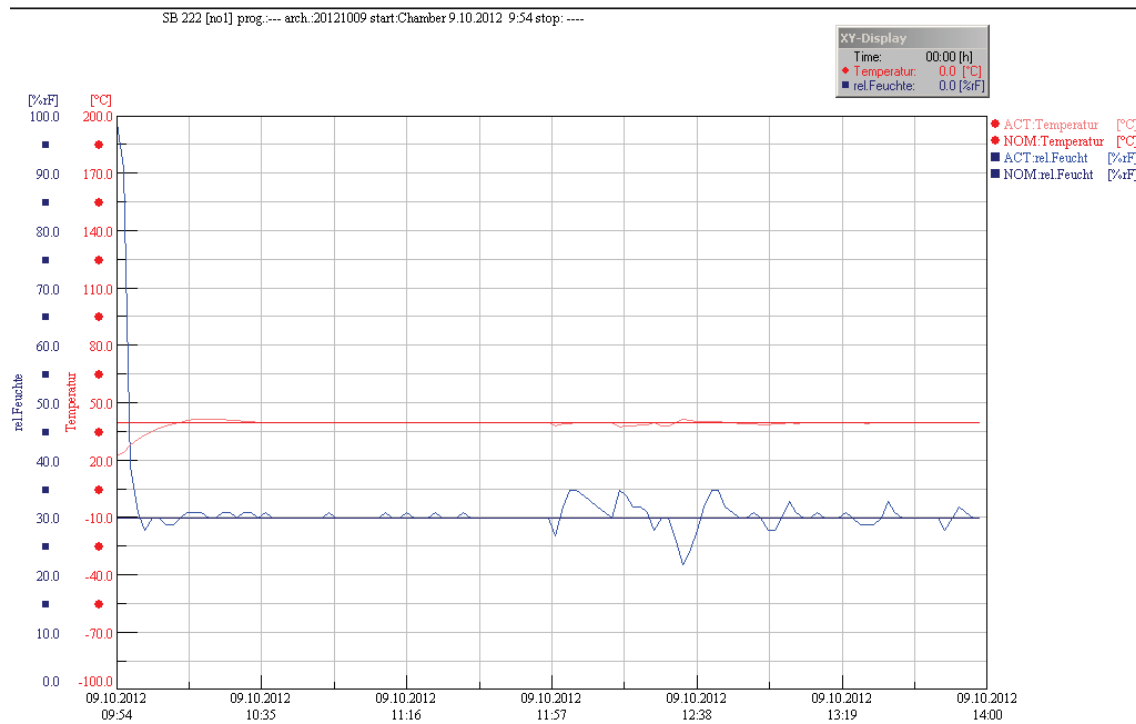
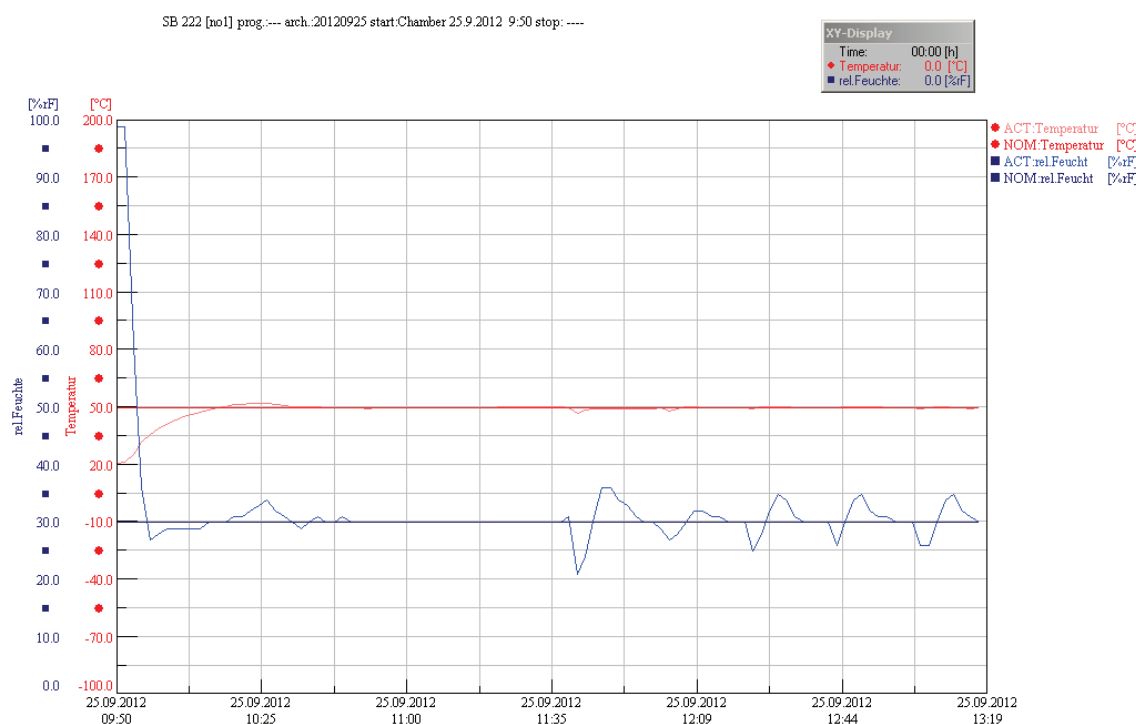
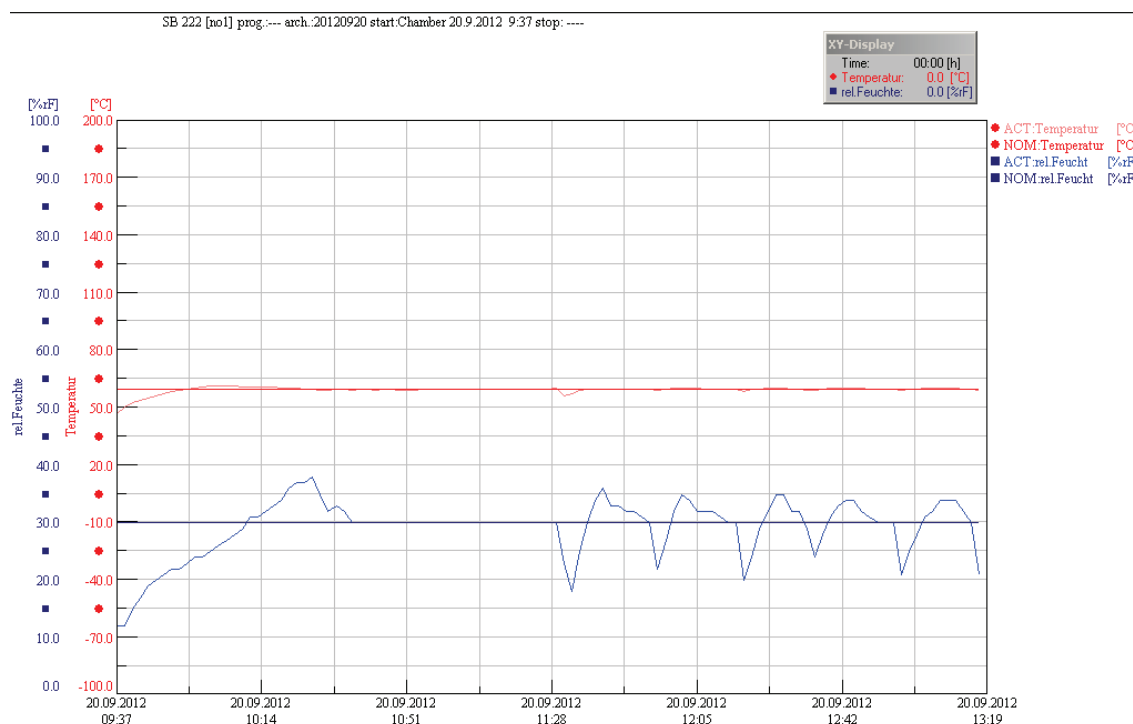


Figura 39: Evolución a lo largo del tiempo de las condiciones ambientales (temperatura y humedad relativa) de la cámara climática durante los diferentes castings realizados para Eugenol.

CARVACROL**40°C-30% HR****50°C-30%HR**

60°C-30%HR



80°C-30%HR

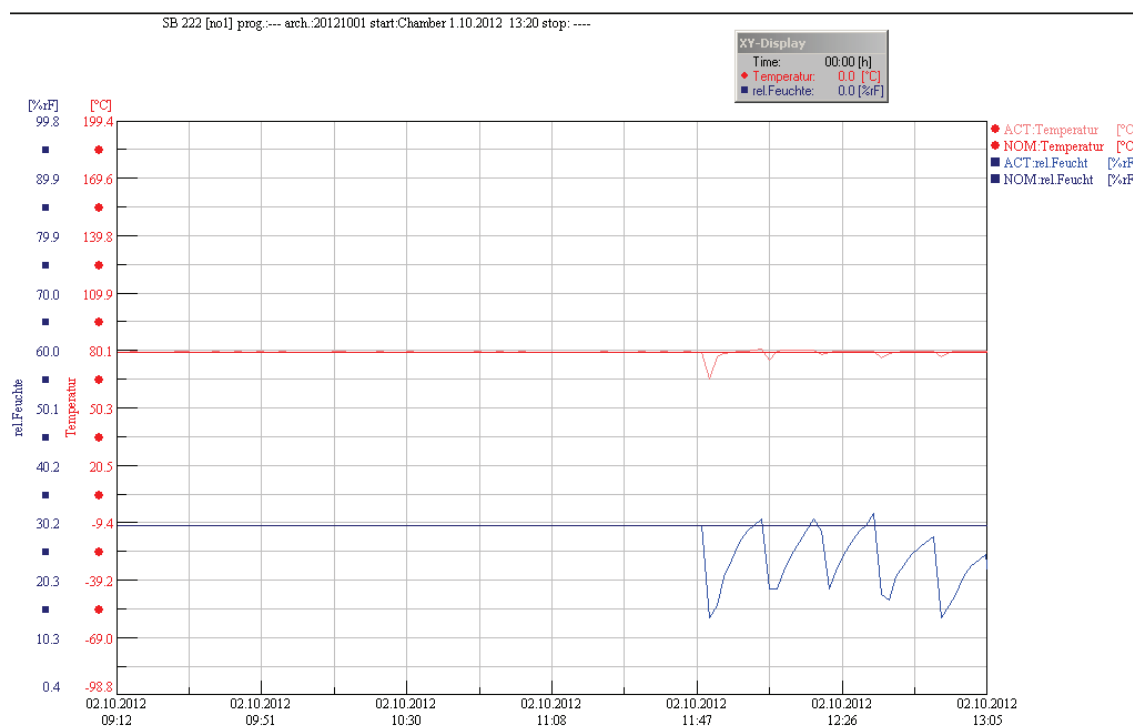


Figura 40: Evolución a lo largo del tiempo de las condiciones ambientales (temperatura y humedad relativa) de la cámara climática durante los diferentes castings realizados para Carvacrol.

6.2 CÁLCULOS REALIZADOS PARA EUGENOL

Tabla 7: Datos de los pesos (solución o de film en la placa) de las muestras realizadas y extraídas en cada tiempo de extracción (Eugenol)

EUGENOL					
PESO SOLUCIÓN FILM	Nº PLACA	40	50	60	80
PESO PLACA	1	106,43	107,31	106,39	106,37
P. SOL ENTRADA	1	14,00	14,01	14,00	14,00
P. PLACA SALIDA	1	116,87	118,46	117,00	117,03
P.SOL SALIDA	1	10,44	11,15	10,61	10,66
PESO PLACA	2	107,41	107,80	106,15	105,73
P. SOL ENTRADA	2	14,00	14,00	14,00	14,00
P. PLACA SALIDA	2	115,86	115,46	114,90	113,56
P.SOL SALIDA	2	8,45	7,66	8,75	7,83
PESO PLACA	3	106,04	106,16	106,40	106,41
P. SOL ENTRADA	3	14,01	14,00	14,02	14,00
P. PLACA SALIDA	3	109,93	111,48	110,73	110,50
P.SOL SALIDA	3	3,89	5,32	4,33	4,09
PESO PLACA	4	108,32	108,19	107,30	106,43
P. SOL ENTRADA	4	14,00	14,00	14,01	14,01
P. PLACA SALIDA	4	111,45	110,90	111,18	110,28
P.SOL SALIDA	4	3,13	2,71	3,88	3,85
PESO PLACA	5	105,78	106,42	107,78	107,30
P. SOL ENTRADA	5	14,02	14,01	14,00	14,00
P. PLACA SALIDA	5	108,18	108,80	110,20	109,63
P.SOL SALIDA	5	2,40	2,38	2,42	2,33

Tabla 8: Relación de datos utilizada para obtener los pesos de los discos de 17mm de Eugenol.

(peso film/área film)*Área disco		
MUESTRA Líquida:	0,5	gr
MUESTRA disco sólido:	x	gr
(A) área film	153,938	cm2
(a) área disco	2,269801	cm2

Tabla 9: Peso calculado de los diferentes discos de 17mm de Eugenol.

p.film 40M5	
p.film 40M6	0,035388
p.film 50M5	0,039959
p.film 50M6	0,035093
p.film 60M5	0,05721
p.film 60M6	0,035683
p.film 80M6	0,034356

Tabla 10: Cálculos realizados para Eugenol (casting a 40°C y 50°C)

EUGENOL	40°C	ppm	mg/g	media	de	%eug retenido	%pérdida de eug	50°C	ppm	mg/g	media	de	%eug retenido	%pérdida de eug
MUESTRA 1	1,5353	60,0160	18,0048			90,0240		1,5557	60,8315	18,2494			91,2472	
	1,5117	59,0720	17,7216			88,6080		1,5005	58,6240	17,5872			87,9360	
	1,5233	59,5360	17,8608	17,8624	0,1416	89,3040		1,5400	60,2040	18,0612	17,9659	0,3412	90,3060	
MUESTRA 2	1,5991	62,5694	18,7708			69,9883		1,4061	54,8480	16,4544			65,5238	
	1,5301	59,8079	17,9424			66,8994		1,2767	49,6720	14,9016			59,3403	
	1,5321	59,8864	17,9659	18,2264	0,4717	66,9872		1,3493	52,5760	15,7728	15,7096	0,7783	62,8095	
MUESTRA 3	1,6181	63,3280	18,9984			57,3345		0,6818	25,8746	7,7624			21,2356	
	1,5854	62,0200	18,6060			56,1503		0,6240	23,5655	7,0697			19,3406	
	1,1297	43,7922	13,1377	16,9140	3,2763	39,6476		1,7989	70,5600	21,1680	12,0000	7,9473	57,9096	
MUESTRA 4	0,2701	9,4080	28,2240			39,2112		0,2177	7,3120	21,9360			41,6784	
	0,4110	15,0440	45,1320			62,7012		0,2791	9,7680	29,3040			55,6776	
	0,2937	10,3520	31,0560	34,8040	9,0557	43,1457		0,2626	9,1080	27,3240	26,1880	3,8131	51,9156	
MUESTRA 5	0,4834	17,9400	67,2750			75,2038		0,4448	16,3960	61,0273			59,0657	
	0,4964	18,4600	69,2250			77,3837		0,4563	16,8560	62,7395			60,7228	
	0,4802	17,8120	66,7950	67,7650	1,2870	74,6673		0,4405	16,2240	60,3871	61,3846	1,2162	58,4461	
MUESTRA 6	0,5268	19,6760	82,6723			70,8619	29,1381	0,4843	17,9760	75,5294			64,2000	35,8000
	0,4972	18,4920	77,6975			66,5978	33,4022	0,4414	16,2600	68,3193			58,0714	41,9286
	0,4825	17,9040	75,2269	78,5322	3,7922	64,4802	35,5198	0,4408	16,2360	68,2185	70,6891	4,1922	57,9857	42,0143
	media					67,3133	32,6867	media					60,0857	39,9143
	de					3,2505	3,2505	de					3,5633	3,5633

Tabla 11: Cálculos realizados para Eugenol (casting a 60°C y 80°C)

EUGENOL	60°C	ppm	mg/g	media	de	%eug retenido	%pérdida de eug	80°C	ppm	mg/g	media	de	%eug retenido	%pérdida de eug
MUESTRA 1	1,4851	58,0079	17,4024			87,0119		1,4492	56,5720	16,9716			84,8580	
	1,5078	58,9160	17,6748			88,3740		1,4812	57,8520	17,3556			86,7780	
	1,4071	54,8880	16,4664	17,1812	0,6338	82,3320		1,4772	57,6920	17,3076	17,2116	0,2092	86,5380	
MUESTRA 2	1,4305	55,8240	16,7472			63,4599		1,3464	52,4600	15,7380			59,9168	
	1,4271	55,6880	16,7064			63,3053		1,3399	52,2001	15,6600			59,6199	
	1,4549	56,8000	17,0400	16,8312	0,1820	64,5694		1,3969	54,4809	16,3443	15,9141	0,3746	62,2250	
MUESTRA 3	1,1122	43,0920	12,9276			40,3988		1,3683	53,3373	16,0012			44,7462	
	1,3039	50,7600	15,2280			47,5875		1,3425	52,3040	15,6912			43,8793	
	1,1750	45,6040	13,6812	13,9456	1,1728	42,7538		1,3933	54,3360	16,3008	15,9977	0,3048	45,5840	
MUESTRA 4	0,1843	5,9754	17,9263			27,7217		0,2176	7,3080	21,9240			32,0247	
	0,3467	12,4707	37,4120			57,8550		0,2642	9,1720	27,5160			40,1930	
	0,2304	7,8203	23,4610	26,2664	10,0412	36,2807		0,2841	9,9680	29,9040	26,4480	4,0958	43,6812	
MUESTRA 5	0,3519	12,6800	32,9636			45,6781		0,2909	10,2400	30,7200			42,2400	
	0,3895	14,1840	36,8735			51,0961		0,2573	8,8960	26,6880			36,6960	
	0,5831	21,9280	57,0052	42,2808	12,9007	78,9929		0,2963	10,4560	31,3680	29,5920	2,5357	43,1310	
MUESTRA 6	0,4413	16,2560	67,7522			58,5572	41,4428	0,3220	11,4840	49,7024			41,3595	58,6405
	0,4244	15,5800	64,9347			56,1221	43,8779	0,3215	11,4640	49,6158			41,2874	58,7126
	0,4171	15,2880	63,7177	65,4682	2,0695	55,0703	44,9297	0,2703	9,4160	40,7521	46,6901	5,1426	33,9116	66,0884
	media					56,5832	43,4168	media					38,8528	61,1472
	de					1,7886	1,7886	de					4,2794	4,2794

Tabla 12: Cálculos y datos de partida para la realización de la recta patrón de Eugenol.

	ML ETANOL	ML MUESTRA (con etanol)	ML SOLUCIÓN	UL EUGENOL	ML EUGENOL	GR EUGENOL	GR SOLUCIÓN	L. SOLUCIÓN	ML EUGENOL	PPM EUGENOL	ABS
DM	10	-	10	20	0,02	0,02132	8	0,01	21,32	2132	3,2748
D-1	9	1	10	2	0,002	0,002132	8	0,01	2,132	213,2	2,8143
D-1/D-2	5	5	10	1	0,001	0,001066	8	0,01	1,066	106,6	2,6741
D-2	9	1	10	0,2	0,0002	0,0002132	8	0,01	0,2132	21,32	0,6844
D-2/D-3	5	5	10	0,1	0,0001	0,0001066	8	0,01	0,1066	10,66	0,3380
D-3	9	1	10	0,02	0,00002	0,00002132	8	0,01	0,02132	2,132	0,0654
D-3/D-4	5	5	10	0,01	0,00001	0,00001066	8	0,01	0,01066	1,066	0,0296
D-4	9	1	10	0,002	0,000002	0,000002132	8	0,01	0,002132	0,2132	0,0032
EUGENOL: DENSIDAD					1,066	gr/ml				0	0,0000
ETANOL / MUESTRA: DENSIDAD CH ₃ CH ₂ OH / C ₂ H ₆ O					0,8	gr/ml					

Tabla 13: Concentración expresada en mg Eugenol/g de film o solución de cada muestra realizada y para cada Casting.

Extracción Nº	mg/g de Eugenol			
	40	50	60	80
0	17,86240	17,96595	17,18119	17,21160
1	18,22637	15,70960	16,83120	15,91410
2	16,91402	12,00001	13,94560	15,99773
3	34,80400	26,18800	26,26642	26,44800
4	67,76500	61,38462	42,28076	29,59200
5	78,53221	70,68908	65,46819	46,69010

Tabla 14: Cantidad (mg) de Eugenol de cada muestra realizada y para cada Casting.

Extracción Nº	mg totales de Eugenol en el film			
	40	50	60	80
0	250,07360	251,52323	240,53669	240,96240
1	190,28326	175,16204	178,57903	169,64431
2	142,92350	91,92010	122,02400	125,26225
3	135,38756	139,32016	113,73361	108,17232
4	212,10445	166,35231	164,04936	113,92920
5	188,47731	168,24000	158,43301	108,78794

6.2.1 EVOLUCIÓN DEL SECADO EN EL CASTING PARA EUGENOL

Tras realizar el experimento de secado con cada c.a. y en cada condición, tiempo y temperatura observamos cómo es la evolución del peso de los films y la relación tiempo-temperatura para el secado de los films.

A continuación presentamos datos de las mediciones realizadas en cada c.a. y condición de temperatura así como las cinéticas de secado obtenidas con cada condición de temperatura y evolución del peso del film.

Tabla 15: Tiempo de extracción de cada una de las 5 muestra expresado en minutos para cada condición de temperatura realizada. (Eugenol)

TEMPERATURA (°C) ->	40	50	60	80	Nº PLACA
TIEMPO EXTRACCIÓN DE CADA MUESTRA (min)	0	0	0	0	0
	30	20	20	15	1
	60	40	40	30	2
	90	60	60	45	3
	115	80	80	60	4
	140	100	100	75	5

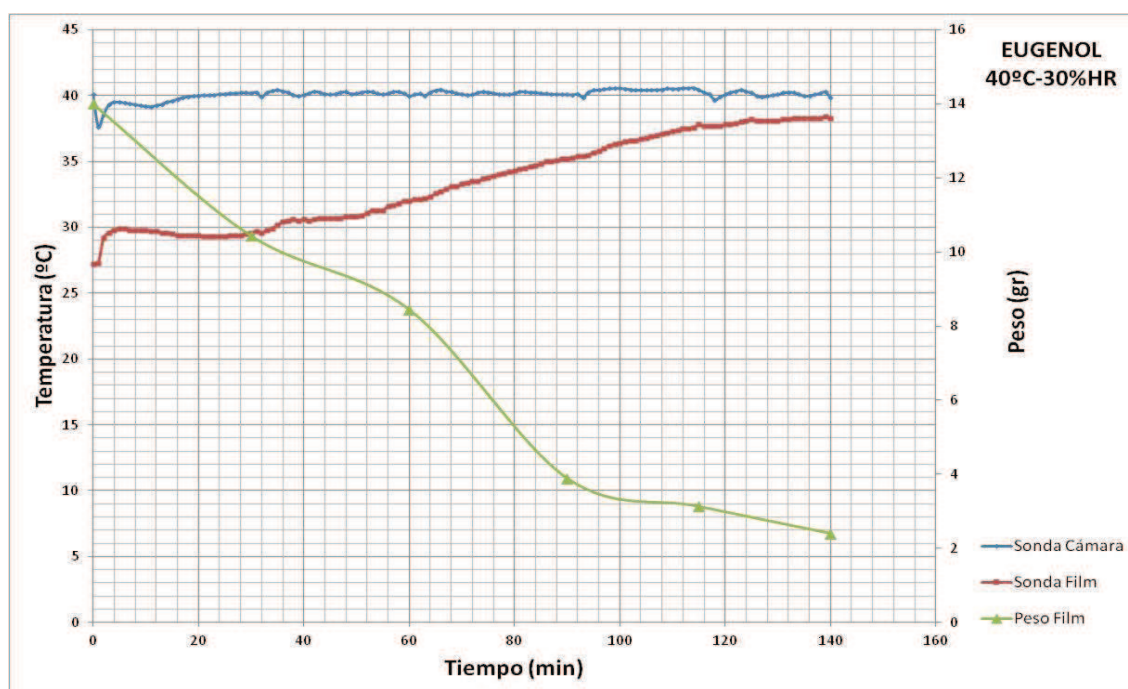
En esta tabla presentamos los tiempos (expresados en minutos) de extracción de las 6 muestra tomadas a lo largo del secado para cada condición de temperatura en el caso del los films WPI con Eugenol como compuesto activo.

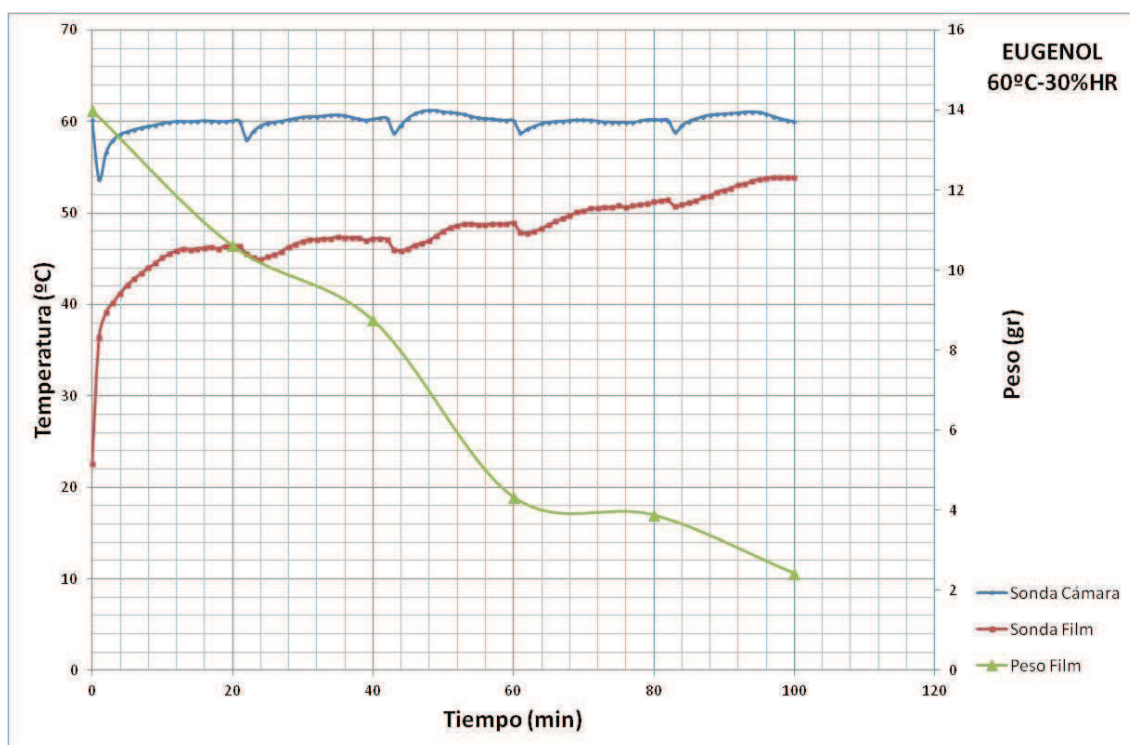
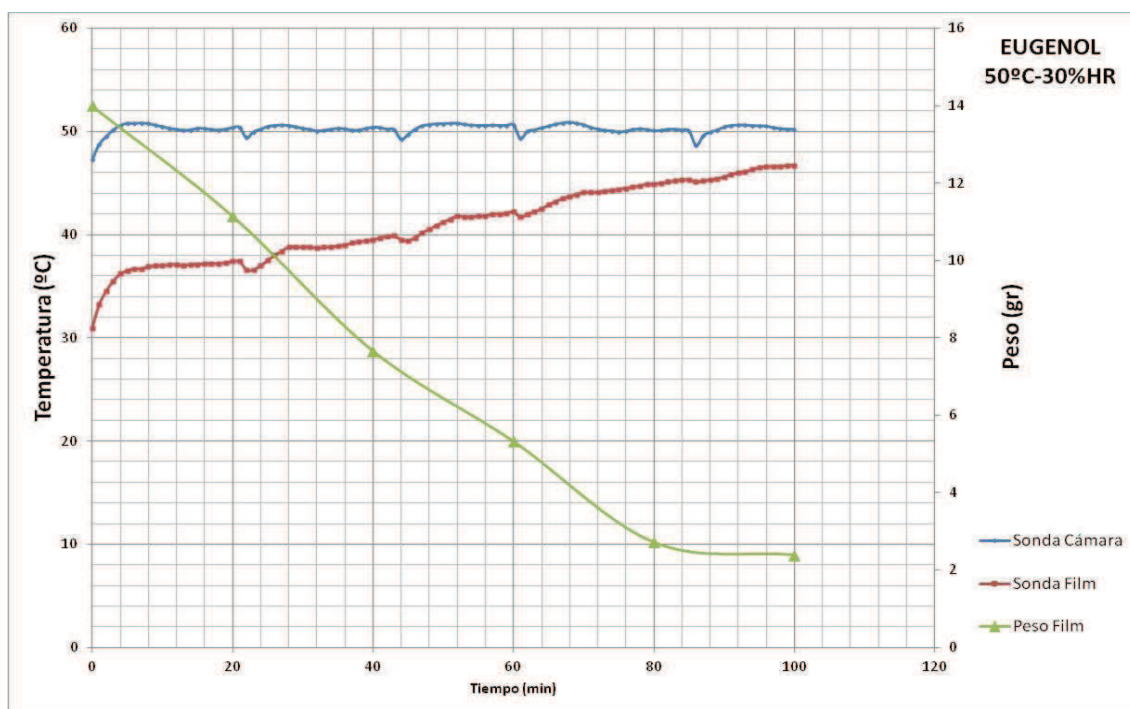
Tabla 16: Datos de los pesos (solución o de film en la placa) de las muestras realizadas y extraídas en cada tiempo de extracción. (Eugenol)

PESO SOLUCIÓN FILM	Nº PLACA	40	50	60	80
P.SOL SALIDA (gr)	0	14	14	14	14
	1	10,44	11,15	10,61	10,66
	2	8,45	7,66	8,75	7,83
	3	3,89	5,32	4,33	4,09
	4	3,13	2,71	3,88	3,85
	5	2,4	2,38	2,42	2,33

Todos los datos de esta tabla están expresados en grados centígrados (°C) y corresponde a los diferentes pesos tomados en cada muestra tiempo y condición de temperatura. Los pesos finales del film, únicamente a la salida de cada muestreo, son los expresados en negrita.

Con todo esto realizamos las diferentes gráficas en las que representaremos gráficamente las cinéticas de secado en las que podremos observar la evolución a lo largo del tiempo de la temperatura en la cámara, en el film y la evolución del peso del film a lo largo de ese tiempo.





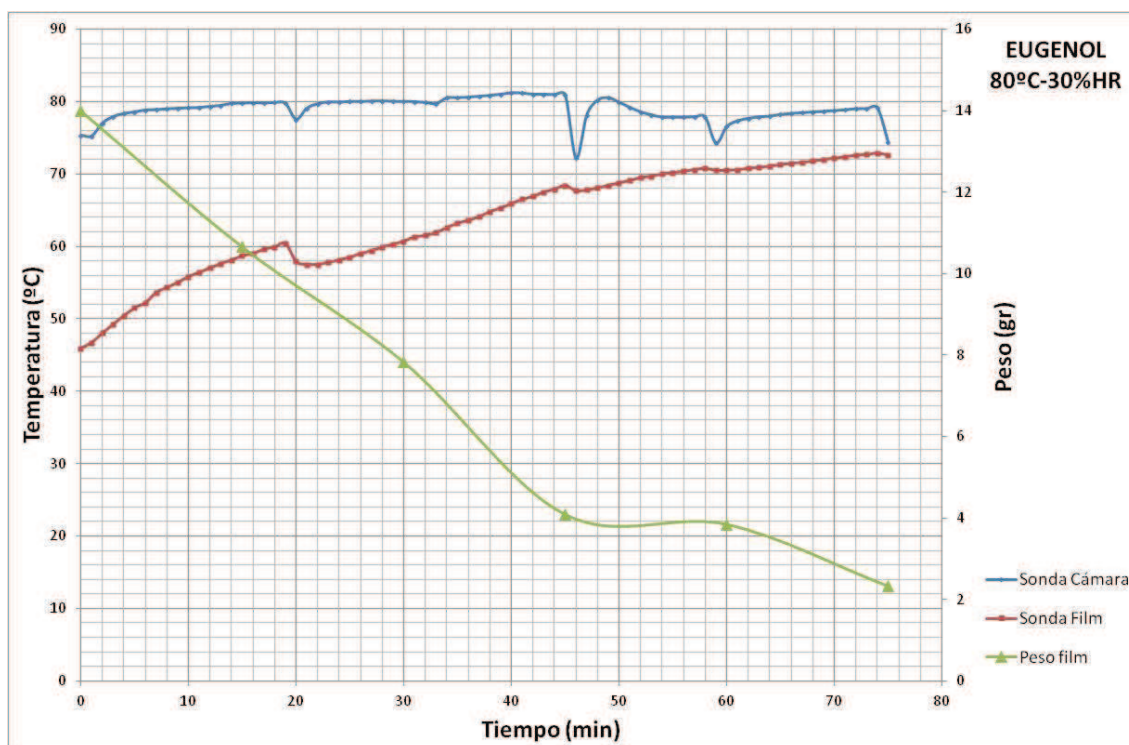


Figura 41: Cinéticas de secado de los film de Eugenol para cada condición de temperatura trabajada en las que se observa la evolución de la temperatura en la cámara climática, en el film, y la evolución del peso de la solución formadora de films.

Analizando las diferentes cinéticas de secado representadas gráficamente y la tabla de datos podemos ver la influencia de la temperatura en el tiempo de secado. Observamos como el aumento de temperatura provoca una reducción del tiempo de secado de los films, habiendo una diferencia de 65min ($140\text{min} - 75\text{min} = 65\text{min}$) entre la temperatura de secado de 40°C a 80°C . Entre los 50°C y 60°C el tiempo de secado no varía siendo en ambos casos de 100min. Por lo que vemos que si hay una relación entre la temperatura y el tiempo de secado de los films bajo mismas condiciones de humedad (30% de HR) y es que al aumentar la temperatura baja el tiempo de secado, es decir, temperatura y tiempo son dos variables inversamente proporcionales.

Otra cosa que observamos es que una vez llegado al final del proceso de fabricación, cuando el film está completamente seco y al margen del tiempo de secado, el peso final de los films son diferentes siendo menor en secado a mayor temperatura y mayor el secado a menor temperatura. Por tanto sabemos que a mayor temperatura de secado sometamos a los films, el peso final de los films será menor que si lo realizamos a más baja temperatura. La temperatura de secado y el peso final de film son también inversamente proporcionales.

6.3 CÁLCULOS REALIZADOS PARA CARVACROL

Tabla 17: Datos de los pesos (solución o de film en la placa) de las muestras realizadas y extraídas en cada tiempo de extracción (Carvacrol)

CARVACROL					
PESO SOLUCIÓN FILM (gr)	Nº PLACA	40ºC	50	60	80
PESO PLACA	1	106,37	106,15	105,75	106,35
P. SOL ENTRADA	1	14,00	14,00	14,00	14,00
P. PLACA SALIDA	1	116,80	117,01	115,90	117,17
P.SOL SALIDA	1	10,43	10,86	10,15	10,82
PESO PLACA	2	107,31	108,17	106,47	107,30
P. SOL ENTRADA	2	14,00	14,00	14,00	14,00
P. PLACA SALIDA	2	115,49	117,38	113,34	116,40
P.SOL SALIDA	2	8,18	9,21	6,87	9,10
PESO PLACA	3	107,29	107,30	106,48	108,17
P. SOL ENTRADA	3	14,00	14,00	14,00	14,00
P. PLACA SALIDA	3	111,30	113,06	111,12	112,16
P.SOL SALIDA	3	4,01	5,76	4,64	3,99
PESO PLACA	4	108,10	106,37	106,41	106,15
P. SOL ENTRADA	4	14,00	14,00	14,00	14,00
P. PLACA SALIDA	4	111,34	111,31	110,14	109,54
P.SOL SALIDA	4	3,24	4,94	3,73	3,39
PESO PLACA	5	106,16	107,38	106,02	107,78
P. SOL ENTRADA	5	14,00	14,00	14,00	14,00
P. PLACA SALIDA	5	108,58	110,30	108,39	110,05
P.SOL SALIDA	5	2,42	2,92	2,37	2,27

Tabla 18: Relación de datos utilizada para obtener los pesos de los discos de 17mm de Carvacrol.

(peso film/área film)*Área		
MUESTRA Líquida:	0,5	gr
MUESTRA disco sólido:	x	gr
(A) área film	153,938	cm2
(a) área disco	2,269801	cm2

Tabla 19: Peso calculado de los diferentes discos de 17mm del film de Carvacrol.

Peso (gr) disco film 17mm	
p.film 40M5	0,047774
p.film 40M6	0,035683
p.film 50M6	0,043055
p.film 60M5	0,054999
p.film 60M6	0,034945
p.film 80M5	0,049985
p.film 80M6	0,033471

Tabla 20: Cálculos realizados para Carvacrol (casting a 40°C y 50°C)

CARVACROL	40°C	ppm	mg/g	media	de	%carv retenido	%pérdida de carv	50°C	ppm	mg/g	media	de	%carv retenido	%pérdida de carv
MUESTRA 1	1,2155	61,9939	18,5982			92,9908		1,2478	63,6535	19,0960			95,4802	
	1,3803	70,4462	21,1338			105,6692		1,2624	64,3976	19,3193			96,5964	
	1,2720	64,8944	19,4683	19,7334	1,2885	97,3416		1,2696	64,7696	19,4309	19,2821	0,1705	97,1544	
MUESTRA 2	1,1958	60,9846	18,2954			68,1503		1,1287	57,5436	17,2631			66,9561	
	1,1877	60,5715	18,1715			67,6887		1,2355	63,0205	18,9062			73,3289	
	1,1870	60,5343	18,1603	18,2090	0,0750	67,6471		1,1058	56,3692	16,9108	17,6933	1,0650	65,5896	
MUESTRA 3	1,3503	68,9074	20,6722			60,3924		1,1391	58,0769	17,4231			57,3095	
	1,3550	69,1487	20,7446			60,6039		1,1168	56,9347	17,0804			56,1824	
	1,3693	69,8821	20,9646	20,7938	0,1523	61,2466		1,1690	59,6103	17,8831	17,4622	0,4028	58,8225	
MUESTRA 4	0,2918	14,6256	43,8769			62,8380		1,2403	63,2667	18,9800			39,2479	
	0,3086	15,4872	46,4615			66,5396		1,3075	66,7128	20,0138			41,3858	
	0,2730	13,6615	40,9846	43,7744	2,7399	58,6958		2,3135	118,3041	35,4912	24,8284	9,2488	73,3908	
MUESTRA 5	0,4251	21,4615	67,3902			77,9801		1,6207	82,7744	24,8323			43,8113	
	0,3405	17,1231	53,7673			62,2164		1,9763	101,0103	30,3031			53,4633	
	0,3945	19,8923	62,4628	61,2067	6,8978	72,2783		2,1095	107,8410	32,3523	29,1626	3,8876	57,0787	
MUESTRA 6	0,3892	19,6205	82,4807			71,2869	28,7131	0,3754	18,9128	65,8907			68,7146	31,2854
	0,3842	19,3641	81,4028			70,3553	29,6447	0,3523	17,7282	61,7636			64,4106	35,5894
	0,3888	19,6000	82,3945	82,0927	0,5990	71,2124	28,7876	0,3587	18,0564	62,9070	63,5204	2,1308	65,6030	34,3970
	media					70,9515	29,0485	media					66,2427	33,7573
	de					0,5177	0,5177	de					2,2222	2,2222

Tabla 21: Cálculos realizados para Carvacrol (casting a 60°C y 80°C)

CARVACROL	60°C	ppm	mg/g	media	de	%carv retenido	%pérdida de carv	80°C	ppm	mg/g	media	de	%carv retenido	%pérdida de carv
MUESTRA 1	1,2083	61,6256	18,4877			92,4385		1,1015	56,1487	16,8446			84,2231	
	1,1628	59,2923	17,7877			88,9385		1,3595	69,3795	20,8138			104,0692	
	1,1868	60,5245	18,1573	18,1442	0,3502	90,7867		1,1705	59,6872	17,9062	18,5215	2,0549	89,5308	
MUESTRA 2	1,1591	59,1026	17,7308			64,2740		1,1328	57,7538	17,3262			66,9532	
	1,2099	61,7079	18,5124			67,1073		1,1347	57,8516	17,3555			67,0665	
	1,2565	64,0994	19,2298	18,4910	0,7498	69,7081		1,0882	55,4685	16,6405	17,1074	0,4046	64,3038	
MUESTRA 3	1,1847	60,4154	18,1246			44,4700		1,1595	59,1231	17,7369			57,6450	
	1,2315	62,8139	18,8442			46,2355		1,1250	57,3538	17,2062			55,9200	
	1,2561	64,0786	19,2236	18,7308	0,5582	47,1664		1,1297	57,5952	17,2786	17,4072	0,2878	56,1553	
MUESTRA 4	1,4256	72,7686	21,8306			36,1764		1,6573	84,6513	25,3954			36,1884	
	2,1972	112,3385	33,7015			55,8483		2,4100	123,2513	36,9754			52,6899	
	1,8399	94,0154	28,2046	27,9122	5,9409	46,7391		1,8395	93,9949	28,1985	30,1897	6,0414	40,1828	
MUESTRA 5	0,3202	16,0821	43,8617			58,4301		0,2709	13,5538	40,6737			49,2443	
	0,3258	16,3692	44,6450			59,4735		0,2380	11,8667	35,6107			43,1144	
	0,3342	16,8000	45,8198	44,7755	0,9856	61,0386		0,2681	13,4103	40,2428	38,8424	2,8070	48,7226	
MUESTRA 6	0,3209	16,1179	67,7566			57,3512	42,6488	0,2397	11,9538	53,5711			43,4308	56,5692
	0,3238	16,2667	68,3818			57,8803	42,1197	0,3072	15,4154	69,0839			56,0073	43,9927
	0,2935	12,3382	51,8671	62,6685	9,3595	43,9018	56,0982	0,2677	13,3897	60,0060	60,8870	7,7939	48,6477	51,3523
	media					53,0444	46,9556	media					49,3620	50,6380
	de					7,9222	7,9222	de					6,3186	6,3186

Tabla 22: Cálculos y datos de partida para la realización de la recta patrón de Carvacrol.

	ML ETANOL	ML MUESTRA (con etanol)	ML SOLUCIÓN	UL CARVACROL	ML CARVACROL	GR CARVACROL	GR SOLUCIÓN	L. SOLUCIÓN	mGR CARVACROL	PPM CARVACROL	ABS	
DM	10	-	10	20	0,02	0,01952	8	0,01	19,52	1952	2,7187	
D-1	9	1	10	2	0,002	0,001952	8	0,01	1,952	195,2	2,5802	
D-1/D-2	5	5	10	1	0,001	0,000976	8	0,01	0,976	97,6	1,9059	
D-2	9	1	10	0,2	0,0002	0,0001952	8	0,01	0,1952	19,52	0,4059	
D-2/D-3	5	5	10	0,1	0,0001	0,0000976	8	0,01	0,0976	9,76	0,2028	
D-3	9	1	10	0,02	0,00002	0,00001952	8	0,01	0,01952	1,952	0,0428	
D-3/D-4	5	5	10	0,01	0,00001	0,00000976	8	0,01	0,00976	0,976	0,0205	
D-4	9	1	10	0,002	0,000002	0,000001952	8	0,01	0,001952	0,1952	0,0039	
CARVACROL: DENSIDAD					0,976	gr/ml					0	0,0000
ETANOL / MUESTRA: DENSIDAD CH3CH2OH / C2H6O					0,8	gr/ml						

Tabla 23: Concentración expresada en mg Carvacrol/g de film o solución de cada muestra realizada y para cada Casting.

Extracción Nº	mg/g de Carvacrol			
	40	50	60	80
0	19,733444	19,282071	18,144241	18,521538
1	18,209048	17,693333	18,490986	17,107391
2	20,793816	17,462189	18,730783	17,40721
3	43,774359	24,828356	27,912247	30,189744
4	61,206744	29,162564	44,775521	38,842422
5	82,092673	63,520423	62,668529	60,886998

Tabla 24: Cantidad (mg) de Carvacrol de cada muestra realizada y para cada Casting.

Extracción Nº	mg totales de Carvacrol en el film			
	40	50	60	80
0	276,26822	269,949	254,01937	259,30154
1	189,92037	192,1496	187,68351	185,10197
2	170,09341	160,82676	128,68048	158,40561
3	175,53518	143,01133	129,51283	120,45708
4	198,30985	144,06307	167,01269	131,67581
5	198,66427	185,47963	148,52441	138,21349

6.3.1 EVOLUCIÓN DEL SECADO EN EL CASTING PARA CARVACROL

Tabla 25: Tiempo de extracción de cada una de las 5 muestra expresado en minutos para cada condición de temperatura realizada. (Carvacrol)

TEMPERATURA (°C) ->	Nº PLACA	40	50	60	80
TIEMPO EXTRACCIÓN DE CADA MUESTRA (min)	0	0	0	0	0
	1	30	20	20	15
	2	60	40	40	30
	3	90	60	60	45
	4	105	80	80	60
	5	120	100	100	75

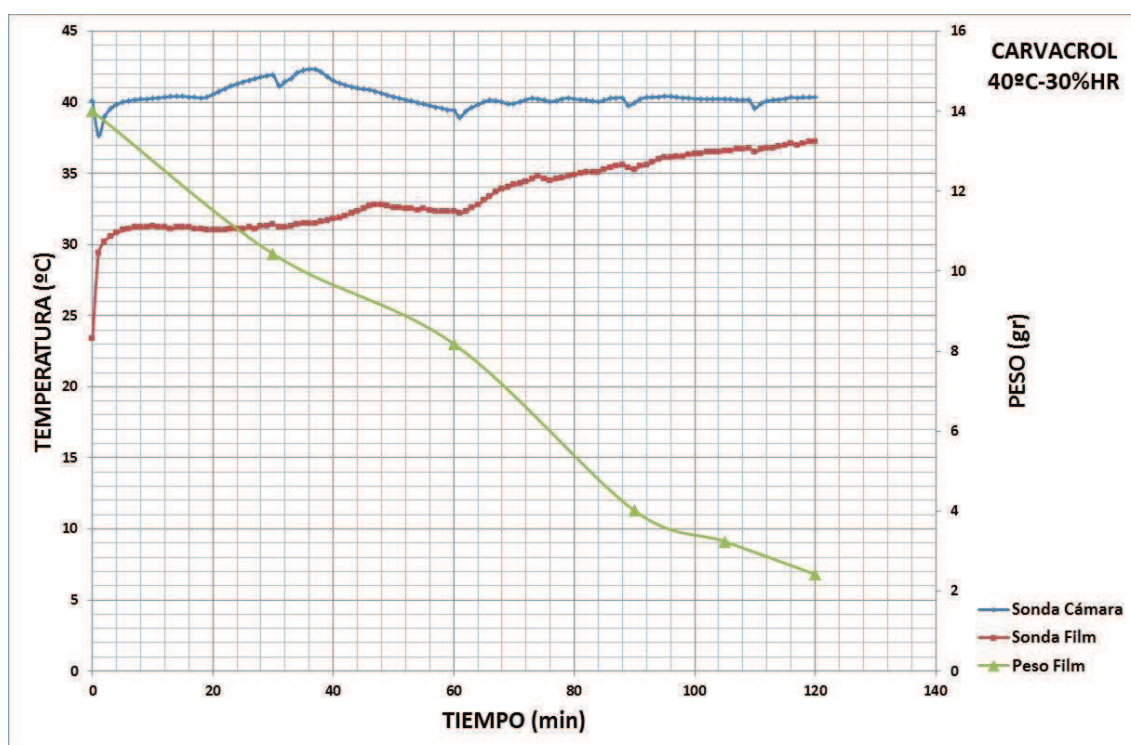
En esta tabla presentamos, como en el caso del c.a. anterior, los tiempos (expresados en minutos) de extracción de las 6 muestra tomadas a lo largo del secado para cada condición de temperatura en el caso de los films WPI con Carvacrol como compuesto activo.

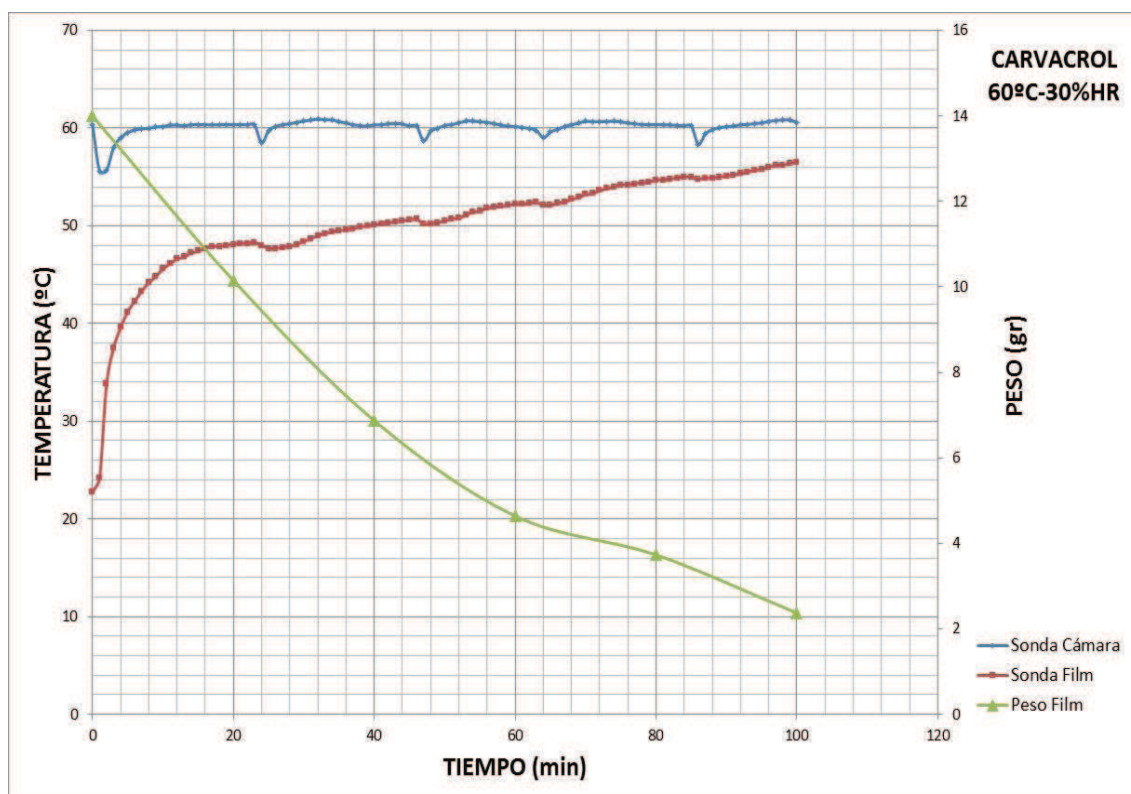
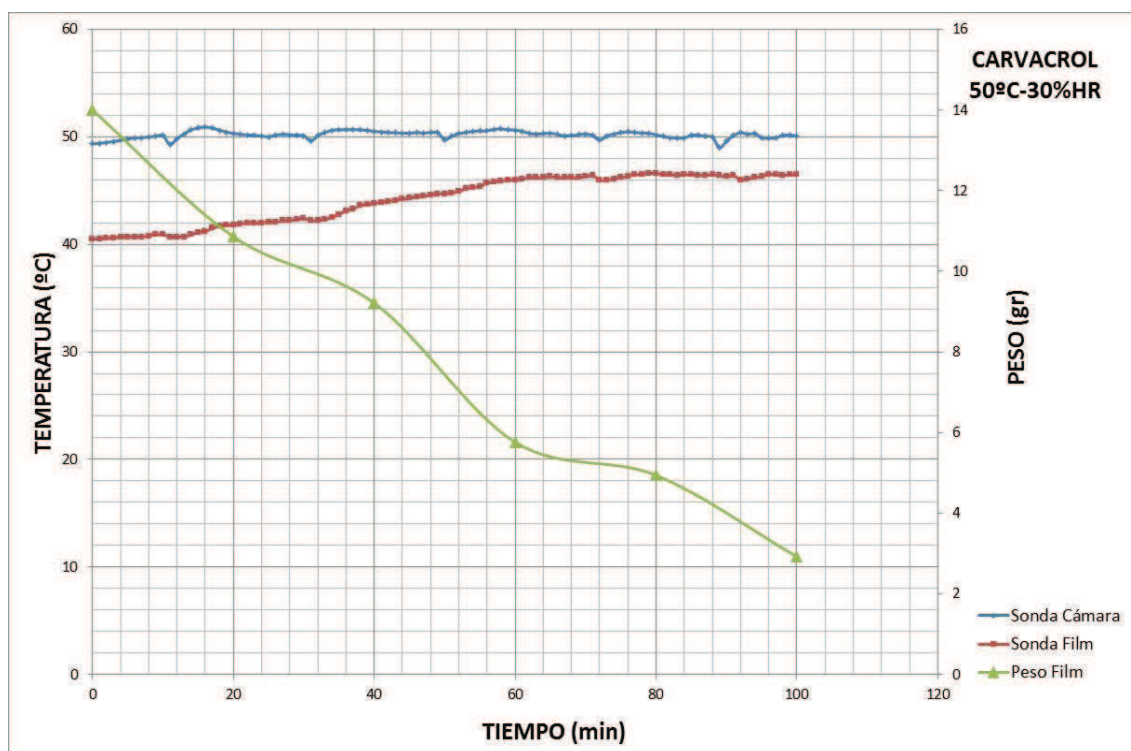
Tabla 26: Datos de los pesos (solución o de film en la placa) de las muestras realizadas y extraídas en cada tiempo de extracción. (Carvacrol)

PESO SOLUCIÓN FILM	Nº PLACA	40	50	60	80
P.SOL SALIDA (gr)	0	14	14	14	14
	1	10,43	10,86	10,15	10,82
	2	8,18	9,21	6,87	9,1
	3	4,01	5,76	4,64	3,99
	4	3,24	4,94	3,73	3,39
	5	2,42	2,92	2,37	2,27

Todos los datos de esta tabla están expresados en grados centígrados (°C) y corresponde a los diferentes pesos tomados en cada muestra tiempo y condición de temperatura. Los pesos finales del film, únicamente a la salida de cada muestreo, son los expresados en negrita.

Con todo esto, de la misma forma que con los datos de Eugenol, realizamos las diferentes gráficas en las que representaremos gráficamente las cinéticas de secado en las que podremos observar la evolución a lo largo del tiempo de la temperatura en la cámara, en el film y la evolución del peso de film a lo largo de ese tiempo.





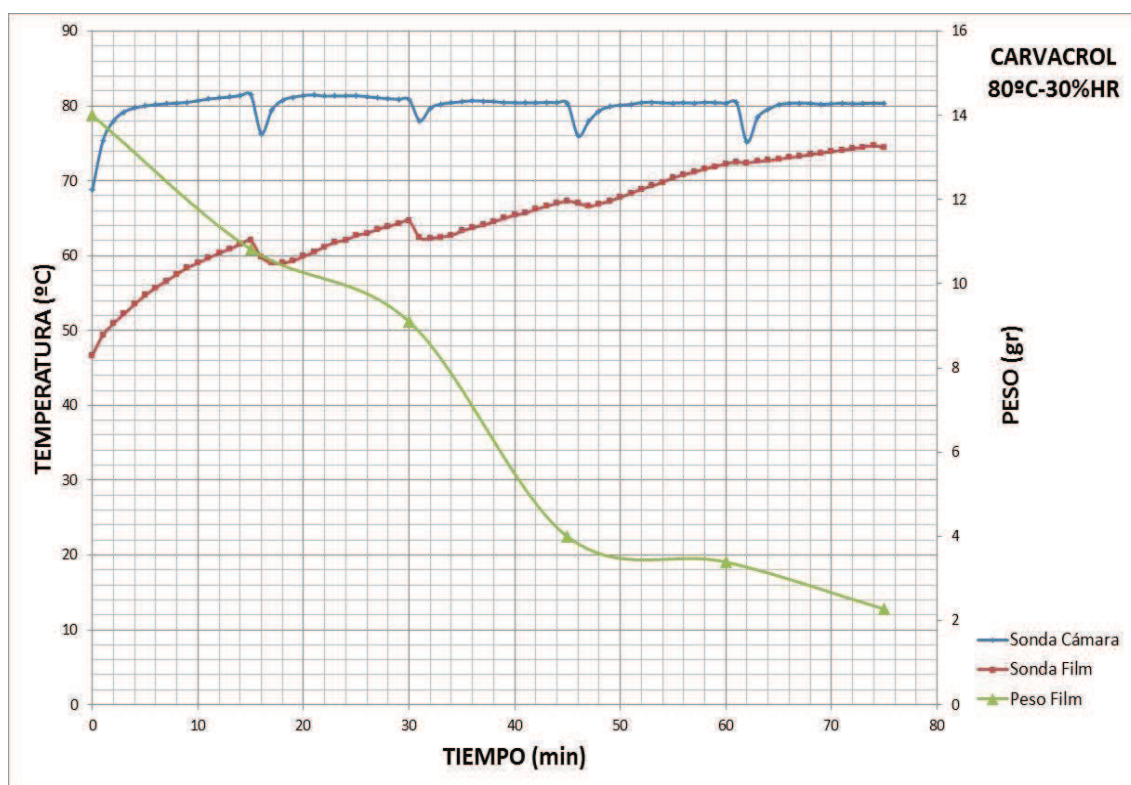


Figura 42: Cinéticas de secado de los film de Carvacrol para cada condición de temperatura trabajada en las que se observa la evolución de la temperatura en la cámara climática, en el film, y la evolución del peso de la solución formadora de films.

Observando los datos y las gráficas realizadas vemos la influencia de la temperatura en el tiempo de secado. El aumento de temperatura provoca una reducción del tiempo de secado de los films de la misma forma que ocurría en las pruebas realizadas con Eugenol. Los tiempos de secados son los mismos y también la diferencia de tiempo de secado necesario para llegar a transformar la solución formadora de film en un film propiamente dicho (65min de diferencia en los tiempos de secado entre 40°C y 80°C). Entre los 50°C y 60°C el tiempo de secado tampoco varía siendo en ambos casos de 100min.

Por lo que vemos que si hay una relación entre la temperatura y el tiempo de secado de los films bajo mismas condiciones de humedad (30% de HR) y es que al aumentar la temperatura baja el tiempo de secado, es decir, temperatura y tiempo son dos variables inversamente proporcionales.

Otra cosa que observamos en este caso también es que una vez llegado al final del proceso de fabricación, cuando el film está completamente seco y al margen del tiempo de secado, el peso final de los films son diferentes siendo menor el secado a mayor temperatura y mayor el secado a menor temperatura. Es decir, que a mayor temperatura de secado sometamos a los films, el peso final de los films será menor que si lo realizamos a más baja temperatura. La temperatura de secado y el peso final de film son también inversamente proporcionales en el caso de Carvacrol como ocurría con las muestras de Eugenol.

6.4 CÁLCULOS DE CANTIDADES ABSOLUTAS Y SUS DESVIACIONES TÍPICAS

Tabla 27: Cálculos de los mg/g, valor medio y desviaciones típicas para Eugenol.

EUGENOL mg/placa				Nº
40	50	60	80	MUESTRA
252,0672	255,4921	243,6333	237,6024	0
248,1024	246,2208	247,4472	242,9784	0
250,0512	252,8568	230,5296	242,3064	0
195,9673	183,4666	177,6878	167,7671	1
187,3184	166,1528	177,2549	166,9359	1
187,5641	175,8667	180,7944	174,2300	1
160,5365	59,4598	113,1165	125,2894	2
157,2207	54,1536	133,2450	122,8621	2
111,0133	162,1469	119,7105	127,6353	2
109,7914	116,6995	77,6208	89,6692	3
175,5635	155,8973	161,9940	112,5404	3
120,8078	145,3637	101,5860	122,3074	3
210,5708	165,3840	127,8988	118,2720	4
216,6743	170,0239	143,0691	102,7488	4
209,0684	163,6490	221,1802	120,7668	4
198,4134	179,7600	163,9602	115,8065	5
186,4739	162,6000	157,1420	115,6048	5
180,5445	162,3600	154,1968	94,9525	5
Desviación EUGENOL mg/placa				Nº
40	50	60	80	MUESTRA
1,982494913	4,77734525	8,87371991	2,92918009	0
4,924065915	8,67834405	1,93073549	3,99300783	1
27,68471424	60,8760192	10,2617416	2,38669977	2
35,22668192	20,2856895	43,4784924	16,7518172	3
4,028226095	3,29591541	50,054792	9,76253117	4
9,101349179	9,97733431	5,00808853	11,9822926	5
Valor medio EUGENOL mg/placa				Nº
40	50	60	80	MUESTRA
250,07360	251,52323	240,53669	240,96240	0
190,28326	175,16204	178,57903	169,64431	1
142,92350	91,92010	122,02400	125,26225	2
135,38756	139,32016	113,73361	108,17232	3
212,10445	166,35231	164,04936	113,92920	4
188,47731	168,24000	158,43301	108,78794	5

Tabla 28: Cálculos de los mg/g, valor medio y desviaciones típicas para Carvacrol.

Nº MUESTRA	CARVACROL mg/placa			
	40	50	60	80
0	260,3743	267,3447	258,8277	235,8246
0	295,8738	270,4699	249,0277	291,3938
0	272,5565	272,0325	254,2027	250,6862
1	190,8209	187,4770	179,9673	187,4690
1	189,5284	205,3208	187,9005	187,7862
1	189,4119	183,6510	195,1827	180,0507
2	169,0987	160,4665	124,5161	161,4060
2	169,6910	157,3106	129,4594	156,5760
2	171,4906	164,7031	132,0659	157,2348
3	175,9465	109,3248	101,2939	101,3276
3	186,3108	115,2798	156,3751	147,5318
3	164,3483	204,4294	130,8694	112,5119
4	218,3443	122,6716	163,6043	137,8840
4	174,2059	149,6972	166,5258	120,7202
4	202,3793	159,8204	170,9080	136,4232
5	199,6033	192,4008	160,5832	121,6063
5	196,9948	180,3496	162,0649	156,8205
5	199,3947	183,6885	122,9251	136,2137
Nº MUESTRA	Desviación CARVACROL mg/placa			
	40	50	60	80
0	18,0384816	2,38690217	4,90257216	28,7689675
1	0,7820209	11,5659274	7,61001633	4,37742205
2	1,24566387	3,70940337	3,83470819	2,61921304
3	10,9870057	53,2729129	27,5656515	24,1050173
4	22,3488399	19,2045809	3,6761463	9,51589358
5	1,44954424	6,22202664	22,1820256	17,6920628
Nº MUESTRA	Valor medio CARVACROL mg/placa			
	40	50	60	80
0	276,26822	269,94900	254,01937	259,30154
1	189,92037	192,14960	187,68351	185,10197
2	170,09341	160,82676	128,68048	158,40561
3	175,53518	143,01133	129,51283	120,45708
4	198,30985	144,06307	167,01269	131,67581
5	198,66427	185,47963	148,52441	138,21349

7 BIBLIOGRAFÍA

- TCF Caracterización de la liberación de Carvacrol y Eugenol en films de WPI. (Patricia Pérez de los Bueis Martin, Ing. Téc. Agrícola en i.a.a, Febrero 2012, UPNA)
- Ley 11/1997, de 24 de abril, de Envases y Residuos de Envases. Artículo 2, definiciones.
- Real Decreto 782/1998, de 30 de abril, por el que se aprueba el Reglamento para el desarrollo y ejecución de la Ley 11/1997, de 24 de abril, de Envases y Residuos de Envases. Reglamento para el desarrollo y ejecución de la Ley 11/1997, de 24 de abril, de envases y residuos de envases. Artículo 2. Definiciones.
- Franck A. Paine y Heather Y. Paine, traducido al español por Antonio Lopez Gomez, A. Madrid Vicente, ediciones, 1994. "Manual de envasado de alimentos" Pg 15, tabla 1.1 Definiciones de envasado.
- http://www.alimentosargentinos.gov.ar/contenido/sectores/tecnologia/Ficha_07_PelículaComestible.pdf (20.11.2012)
- Tesis doctoral "recubrimientos comestibles a base de hidroxipropil metilcelulosa: caracterización y aplicación." Clara pastor navarro, universidad politécnica de valencia 2010.
- <http://microbiologiablancaestela.wikispaces.com/file/view/Permeabilidad.pdf> (20.11.2012)
- Tesis doctoral "Efecto de la composición de recubrimientos comestibles a base de hidroxipropilmetilcelulosa y cera de abeja en la calidad de las ciruelas, naranjas y mandarinas". María Llanos Navarro Tarazaga, universidad politécnica de valencia 2007.
- Gontard, N., Thibault, R., Cuq, B y Guilbert, S. 1996. Influence o relative humidity and film composition on oxygen and carbon dioxide permeabilities of edible films. Joournal Agriculture Food Chemistry. 44, 1064-1069.
- Greenen, I. and Fennema, O. 1994. Edible films and coatings: characteristics, formation, definitions and testing methods. Edible coatings and films to improve food quality. Editores: Krotcha, J.M.; Baldwin, E.A.; Nisperos-Carriedo, M. Technomic Publishing Co., Lancaster EEUU.

- Guilbert, S. y Biquet, B. 1995. *Películas y envolturas comestibles. Embalaje de los alimentos de gran consumo*. Editores: Bureau, G; Multon, J.L. Editorial Acribia, Zaragoza.
- <http://www.theorganicfactory.com.mx/206/1/51/126.cfm?ii=151&bid=4&tid=152&id=54> (22.11.2012)
- *Diccionario de la Real Academia Española*
- TFC Efecto del tipo y contenido de aceites esenciales sobre las propiedades mecánicas y barrera de películas comestibles basadas en zeína. (Irene Marzo Rojas, Ing. Téc. Agrícola en i.a.a, Junio 2010, UPNA)
- RD 866/2008, de 23 de mayo, por el que se aprueba la lista de sustancias permitidas para la fabricación de materiales y objetos de plásticos destinados a entrar en contacto con los alimentos y se regulan determinadas condiciones.
- Dabeaufort, F.; Quezada-Gallo, J.A. y Voilley, A. 1998. *Edible films and coatings: tomorrow's packagings: a review*. *Critical reviews in food Science*, 38(4), 299-313.
- Gennadios, A., M. A. Hanna and L. B. Kurth. 1997. *Application of edible coatings on meats, poultry and seafoods: A review*. *LWT - Food Science and Technology* 30(4): 337-350.
- Kester, J. J., and Fennema, O.R. 1986. *Edible films and coatings: a review*. *Food Technology* 48(12): 47-59.
- Peltzer, M., Wagner, J. and Jimenez, A. 2009. *Migration study of carvacrol as a natural antioxidant in high-density polyethylene for active packaging*. *Food Additives and contaminants*. 26(6):938-946.
- Anker, M. "Edible and biodegradable films and coatings for food packaging". *Publication Sik Rapport, Londres*. 1.996
- Tesis doctoral "Efecto del método de extracción en las características químicas y físicas del Mucílago del nopal (*opuntia ficus-indica*) y estudio de su aplicación como recubrimiento comestible." Myrna Alicia Abraján Villaseñor universidad politécnica de valencia 2008.
- Baldwin, E. A., Nisperos, M. O. Hagenmaier, R. D., Baker, R.E. (1.997) *Use of lipids in coatings for food products*. *Food Technology* 51(6), 56-64.
- <http://www.interempresas.net/Plastico/Articulos/24610-La-importancia-de-los-bioplasticos-y-la-biodegradabilidad.html> (Revista digital Plástico LA

IMPORTANCIA DE LOS BIOPLÁSTICOS Y LA BIODEGRADABILIDAD

15.11.2012: (27/08/2008)

- Banker, G. S. *Film coating theory and practice. Journal of Pharmaceutical Sciences* 55(1), 81-89.1.966
- Bravin, B., Peressini, D., Sension, A. (2.006). *Development and application of polysaccharide-lipid edible coating to extend shef-life of dry bakery products. Journal of Food Engineering* 79(3), 280-290.
- Gennadios, A., Brandenburg, A. H. Park, J. W., Weller, C. L., Testin, R. F. (1.994a). *Water Vapour permeability of wheat gluten and soy protein isolate films. Industrial Crops and Products* 2(3), 189-195.
- Gontard, N., Guilbert, S., Cuq, J. L. (1.993). *Water and Glycerol as Plasticizers Affect Mechanical and water vapour barrier properties of an edible wheat gluten film. Journal of Food Science* 58(1), 206-211.
- Guilbert, S. (1.986). *Technology and application of edible protective films. In Food packaging and preservation: theory and practice (Ed M. Mathlouthi), 371-394. London, UK: El sevier Applied Science Publishing Co.*
- Guilbert, S., Gontard, N. Gorris, L. G. (1.996). *Prolongation of shelf-life of perishable food products using biodegradable films and coatings. LWTFood Science Technology* 29(1-2), 10-17.
- Gunnerson, R. E., Bruno, R. C. (1.990). *US Patent 4,946,694.*
- Krochta, J. M., De Mulder-Johnston, C. L. C. (1.996). *Biodegradable Polymers from Agricultural Products. In ACS Symposium Series* 120-140.
- Krochta, J. M., Baldwin, E. A., Nisperos-Carriedo, M. (1.994). *Edible Coatings and films to improve food quality. New York.*
- Krochta, J. M., Mulder-Johnston, C. (1.997). *Edible and Biodegradable polymer films: challenes and opportunities. Food Tehnology* 51(2), 61-74.
- Krochta, J. M. (2.002). *Proteins as raw materials for films and coatings: Definitions, current status, and opportunities. In Protein-Based Films and Coatings.*
- Maté, J.I., Frankel, E. N., Krochta, J. M. (1.996a). *Whey the Protein Isolate Edible Coatings; Effect on the Rancidity Process of Walnuts. Journal of Agricultural and Food Chemestry* 44(7), 1736-1740.
- Mchugh, T. H., Krochta, J. M. (1.994a). *Sorbitol vs glycerol-plasticized whey protein edible films: Integrated oxigen permeability and tensile property evaluation. Journal of Agricultural and Food Chemestry* 42(4), 841-845.

- Mchugh, T. H., Krochta, J. M. (1.994b). *Water vapor permeability properties of edible whey protein-lipid emulsion films*. *JAOCs, Journal of the American Oil Chemists' Society* 71(3), 307-312.
- Osés, J. (2.006). *Desarrollo, caracterización y aplicaciones alimentarias de recubrimientos comestibles basados en proteína de suero de leche, almidón y goma de mezquite*. Universidad Pública de Navarra.
- Trezza, T. A., Krochta, J. M. (2.000). *The gloss of edible coatings as affected by surfactants, lipids, relative humidity, and time*. *Journal of Food Science* 65(4), 658-662